Научно-практический журнал

# «ГЕМОСТАЗИОЛОГИЯ»

№2 - 2011

# НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ
# «ГЕМОСТАЗИОЛОГИЯ»

Журнал «Гемостазиология» основан гематологами, специализирующимися в области исследования проблем системы гемостаза, и зарегистрирован в Министерстве Российской Федерации по делам печати, телерадиовещания и средств массовых коммуникаций (свидетельство о регистрации СМИ № ФС77-35396 от 20 февраля 2009 г.).

Федеральная служба
по надзору в сфере связи и массовых коммуникаций

**СВИДЕТЕЛЬСТВО**

**О РЕГИСТРАЦИИ СРЕДСТВА МАССОВОЙ ИНФОРМАЦИИ**

***ПИ № ФС77-35396*** *от 20 февраля 2009 г.*

**Название** *«Гемостазиология»*

**Адрес редакции** *656050, Алтайский край, г. Барнаул, ул. Малахова, д. 51*

**Примерная тематика и (или) специализация** *Информационная, медицина: проблемы диагностики и лечения геморрагических и тромботических заболеваний (геморрагические диатезы, инфаркты, инсульты, тромбозы и др.), а также теоретические вопросы гемостазиологии и ангиологии. Реклама не более 40 %*

**Форма периодического распространения** *журнал*

**Язык(и)** *русский*

**Территория распространения** *Российская Федерация*

**Учредитель (соучредители)** *Мамаев Андрей Николаевич (656054, Алтайский край г. Барнаул, ул. Г. Исакова, 183, кв.114)*

**Заместитель Руководителя** А.А. Романенков

**Начальник Управления разрешительной работы в сфере СМИ** М.Ю. Ксензов

Настоящее свидетельство выдано в соответствии с Законом Российской Федерации от 27 декабря 1991 года "О средствах массовой информации".
Нарушение законодательства Российской Федерации о средствах массовой информации влечет уголовную, административную, дисциплинарную или иную ответственность в соответствии с законодательством Российской Федерации.

008269

**Главный редактор:**
д.м.н., проф. А. П. Момот.
**Заместитель главного редактора:**
д.м.н. А. Н. Мамаев.
**Редакционный совет:**
д.м.н., проф. Т. В. Вавилова (Санкт-Петербург);
д.м.н. Н. И. Зозуля (Москва);
д.м.н., проф. В. Ю. Зоренко (Москва);
д.м.н., проф. А. А. Карпенко (Новосибирск);
д.м.н. Г. И. Костюченко (Барнаул);
д.м.н., проф. Б. И. Кузник (Чита);
д.м.н., проф. В. Г. Лычев (Барнаул);
д.м.н., проф. В. А. Макаров (Москва);
д.м.н., проф. А. Д. Макацария (Москва);
д.м.н., проф. Л. П. Папаян (Санкт-Петербург);
д.м.н., проф. О. П. Плющ (Москва);
д.м.н., проф. Т. И. Поспелова (Новосибирск);
д.б.н., проф. Е. В. Ройтман (Москва);
член-корр. РАМН, д.м.н., проф. А. Г. Румянцев (Москва);
д.м.н., проф. В. М. Чернов (Москва);
член-корр. РАМН, д.м.н., проф. Я. Н. Шойхет (Барнаул).

**Издатель:**
Фонд развития современных медицинских технологий «Гемостазиология».
**Технический редактор:**
М. А. Жданов
**Выпускающий редактор и учредитель:**
д.м.н. А. Н. Мамаев.

**Адрес редакции:**
656024, Барнаул, ул. Ляпидевского, 1.
Тел./факс: +(3852) 689-880.
e-mail: amamaev@yandex.ru

Тираж: 500 экземпляров.

Все права защищены. Ни одна часть издания не может быть занесена в память компьютера либо воспроизведена без предварительного письменного разрешения издателя.

# СОДЕРЖАНИЕ


## События, сообщения

Итоги деятельности сотрудников Алтайского краевого центра по диагностике и лечению нарушений гемостаза в первом полугодии 2011 года. . . . . 3

Рецензия на книгу Б. И. Кузника.. . . . . 6

Эссе Николая Морозова «В моей семье гемофилия». . . . . 9

## Передовая статья

**Момот А. П., Шойхет Я. Н., Мамаев А. Н.**
Перспективы плазменно-антитромбинового комплекса при заместительной гемокомпонентной терапии ДВС-синдрома. . . . . 11

## Лекции

**Кузник Б. И., Линькова Н. С., Хавинсон В. Х., Цыбиков Н. Н.**
Белки теплового шока, атеросклероз, тромбоз, ДВС-синдром и продолжительность жизни. Пептидные механизмы регуляции. . . . . 28

**Костюченко Г. И., Арзамасцев Д. А., Ананьев Д., Цалихин А. Д., Костюченко Л. А.**
Роль хронического сосудистого воспаления в патогенезе атеротромботических поражений артерий. Подходы к терапии больных. . . . . 53

## Оригинальные исследования

**Шахматов И. И., Вдовин В. М., Киселёв В. И.**
Общие закономерности гемостатических реакций на однократные стрессорные воздействия. . . . . 61

**Воробьева Н. А., Шемякина Н. Я.**
Роль генетических полиморфизмов системы гемостаза у пациентов с хирургической реваскуляризацией головного мозга в формировании тромбофилического состояния.. . . . . 65

**Воробьева Н. А., Неманова С. Б.**
Гемостазиологический гомеостаз при фармакологическом прерывании беременности.. . . . . 72

**Момот А. П., Лыдина И. В., Цывкина Л. П., Борисова О. Г.**
Роль теста генерации тромбина и некоторых маркёров тромбинемии для прогноза исходов экстракорпорального оплодотворения. . . . . 80

## Современные лекарственные препараты

**Мамаев А. Н., Момот А. П., Елыкомов В. А., Морозова Л. И., Григорьева Е. В., Ефремова О. В., Розум В. Е., Бабушкин И. Е.**
Опыт применения концентрата фактора Виллебранда «Вилате» у пациентки с тяжелой формой болезни Виллебранда (субтип 2N). . . . . 85

## Случай из практики

**Мамаев А. Н., Ефремова О. В., Момот А. П., Костюченко Г. И., Цывкина Л. П., Яковенко Ю. В., Косинова М. В.**
Приобретенная болезнь Виллебранда при хроническом миелолейкозе. . . . . 88

**Информация для авторов** . . . . . 93

# СОБЫТИЯ, СООБЩЕНИЯ

## XXIII международный конгресс ISTH

Международное общество по изучению тромбозов и геморрагий (ISTH) организовало и успешно провело очередной XXIII международный конгресс в Киото в период с 23 по 28 июля 2011 г. Киото не затронули удары стихии, произошедшие на северо-востоке Японии весной 2011 года и принесшие народу этой страны много бед, поэтому в этот город приехали более 4000 специалистов со всего мира. Организаторы этого мероприятия, приглашенные лекторы, а также спонсоры этого мероприятия приложили все усилия, чтобы в древней японской столице обсуждался как можно более широкий спектр проблем, связанных с тромботическими нарушениями и геморрагиями, а результаты исследований, представленных на конгрессе, явились вектором, указывающим направление развития гемостазиологии на ближайшие годы. В работе конгресса приняли участие более 20 специалистов из разных регионов России.

*Фото 1. Golden pavilion (Киото, 2011).*

## Алтайская школа здоровья для больных гемофилией 2011

Очередная школа здоровья для больных гемофилией успешно прошла 17 мая 2011 года на базе Алтайской краевой консультативной поликлиники. На занятие «Школы здоровья» были приглашены все пациенты, проживающие в Алтайском крае. Были также несколько пациентов из других регионов. Расходы на проезд участникам были оплачены из фонда развития современных технологий «Гемостазиология». На этом мероприятии были рассмотрены вопросы оказания медицинской помощи больным гемофилией, организационные и многие другие. В числе выступающих были специалисты из различных областей медицины (гематологи, травматологи, гепатолог), а также сами пациенты. В работе школы здоровья также приняла участие Л. И. Громова — руководитель регионального отделения Всероссийского общества больных гемофилией, ответственная за работу в Сибирском регионе.

## Реализация конкурсных и благотворительных программ фонда «Гемостазиология»

Во время проведения школы здоровья были подведены итоги конкурса эссе среди пациентов и их родителей по следующим тематикам: «В моей семье гемофилия», «Гемофилия, мои планы на будущее». Главный приз — портативный компьютер (ноутбук «Samsung») получил Николай Морозов (пос. Павловск). Первый поощрительный приз — фотоаппарат «Canon» достался Илье Бедареву (г. Бийск). Второй поощрительный приз — фотоаппарат «Canon» получил

*Фото 2. Победитель конкурса эссе Николай Морозов (п. Павловск).*

*Фото 3. Сплав по реке Бия (Горный Алтай).*

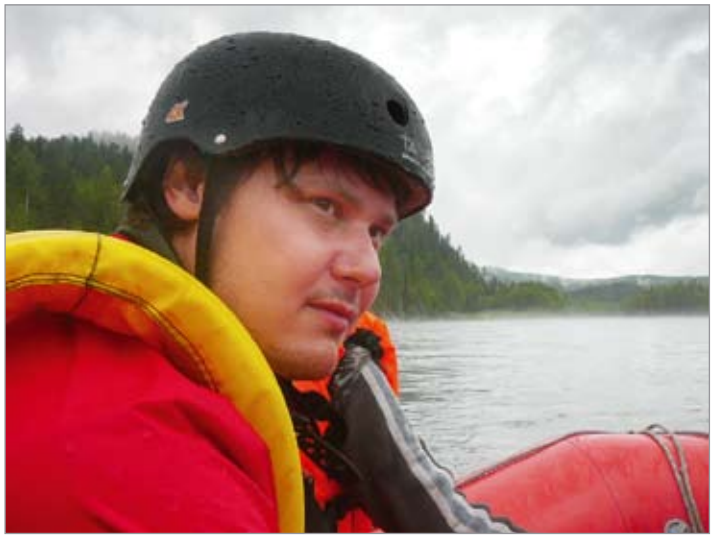

*Фото 4. Иван Викторович Брак.*

Иван Бурнашов (с. Залесово). В организации этого мероприятия приняли активное участие специалисты Алтайской краевой клинической больницы и АФ «ГНЦ», а также сотрудники Фонда развития современных медицинских технологий «Гемостазиология».

Три больных гемофилией А, проживающих в Алтайском крае, бесплатно отдыхали в Горном Алтае и участвовали в сплаве по горной реке в июле 2011 года. В сплаве также участвовали врачи и медицинская сестра процедурного кабинета краевой консультативной поликлиники Т. В. Перевалова. Последняя осуществляла внутривенные инъекции по специально разработанной программе профилактической терапии концентратами коагуляционных факторов.

## Внедрение современных методов оказания медицинской помощи

В июле 2011 года в Барнауле больному гемофилией из Алтайского края был установлен искусственный коленный сустав, поскольку у него сформировалась грубая гемофилическая артропатия. Операция прошла без осложнений. Время хирургического вмешательства составила 55 минут, был использован хорошо зарекомендовавший сустав производства американской фирмы. Гемостатическая программа была индивидуально подобрана так, что объём кровопотери составил лишь 250 мл. Оперировали ортопеды-травматологи ГУЗ «Краевая клиническая больница», (зав. отделением к.м.н. А. И. Голоденко) имеющие многолетний опыт в оказании ортопедо-травматологической помощи (не менее 300 операций ежегодно в течение многих лет). Подобное хирургическое вмешательство у больного с тяжелым течением гемофилии проведено впервые на территории азиатской части России. В настоящее время пациент проходит специальную программу реабилитации.

*Фото 5. Фотография слушателей и преподавателей хозрасчетного цикла по тематике «Клиническая гемостазиология - 2011».*

## Тематический курс повышения квалификации по тематике «Клиническая гемостазиология 2011»

Весной 2011 года в течение двух месяцев с участием сотрудников ГОУ ВПО АГМУ на базе кафедры гематологии и трансфузиологии ФПК и ППС, Алтайского краевого центра патологии гемостаза, Алтайского филиала ГНЦ проведён хозрасчетный цикл обучения врачей «Гематология с курсом физиологии и патологии гемостаза». Клинические лекции и практические занятия и проходили на клинико-лабораторной базе Алтайской краевой клинической больницы (Барнаул, ул. Ляпидевского, 1).

*Информацию подготовил д.м.н. А. Н. Мамаев*

# Рецензия на книгу: Б. И. Кузник — «Клеточные и молекулярные механизмы регуляции системы гемостаза в норме и патологии» *– Чита; Экспресс издательство. 2010. с.828*

Профессор Б. И. Кузник хорошо известен в России и за рубежом. Он один из ведущих физиологов нашего времени, сосредоточивший свои научные интересы в областях гемостаза-гуморостаза и иммунологии в условиях нормы и патологии. В новой книге, по словам автора, подытожены его исследований и сведения литературы о современном состоянии проблемы, явившиеся итогом более 50 лет интенсивных поисков в лаборатории и клинике.

Монография содержит 13 глав, каждая из которых состоит из множества подглав. Это позволяет детально рассматривать частные стороны проблемы, давать обоснованные теоретические обобщения и, что не менее ценно, облегчает чтение и изучение чрезвычайно сложных вопросов. Многие главы начинаются с краткой, но достаточно емкой и интересно написанной исторической справки по изучаемому вопросу. Стоит подчеркнуть исключительно богатый, красивый русский язык автора, и высокий дух патриотизма, который проявился в отстаивании приоритета и достижений отечественных ученых в исследуемых вопросах. Поэтому книга читается с удовольствием даже при рассмотрении очень сложных и запутанных вопросов.

Первая глава посвящена морфологии, функциональной активности сосудистой стенки и ее роли в процессе гемостаза. Со всей тщательностью представлены современные данные о строении стенки сосудов различного калибра и их назначении (артерии, вены, капилляры). Морфологическая характеристика дана в комплексе с биологическими и иммунологическими признаками. Разбирается рецепторный аппарат эндотелия, его связь с циркулирующими белками, метаболитами, клетками и их дериватами, нервными и гормональными влияниями. Подробно представлены новейшие сведения о строении и функции кавеол в сосудистых стенках и их регулирующей роли в ангиогенезе, апоптозе, синтезе NO (оксид азота), свертывании крови и в развитии атеросклероза. При этом ни одно из высказываний автора не является умозрительным, все имеет четкое доказательство. Совершенно обоснованным является заключение автора о том, что эндотелиальный слой служит основным регулятором гемостатического гомеостаза.

Следующие две главы посвящены тромбоцитам и сосудисто-тромбоцитарному гемостазу. Приводится масса новых принципиально важных сведений о морфологии кровяных пластинок, их функции и взаимодействии с другими клетками, ферментами, гормонами, метаболитами, со стенкой сосудов в норме и при патологических состояниях. Автор подчеркивает структурную и функциональную гетерогенность тромбоцитов, динамику этих состояний по мере старения, изнашивания и травмирования кровяных пластинок, их трофическое влияние на эндотелий сосудов, зависимость их количества от циркадных ритмов и других физиологических состояний организма. На сегодня в тромбоцитах установлено наличие более 1000 различных белков, из которых 15% участвуют в построении цитоскелета клеток и 24% выполняют сигнальные функции. Биологическая роль более половины белков тромбоцитов пока не известна. Автор убедительно показывает, что тромбоцит —это сложнейшая структура с многочисленными функциями, несмотря на громадное число исследований, до сих пор еще недостаточно изучен.

Любое повреждение стенки сосуда приводит к развитию каскадного процесса сосудисто-тромбоцитарного гемостаза с образованием тромбоцитарной пробки, или к формированию тромботических наложений на атеросклеро-

тической бляшке, возникшей в кровеносном сосуде. Этот эволюционно сформированный биологический процесс характеризуется ярко выраженной саморегуляцией и, как обычно в биологии живого, лишь относительной целесообразностью. Но на последующих этапах тромбоциты начинают усиленно синтезировать оксид азота. NO способствует секреции тканевого активатора плазминогена, который вызывает растворение фибрина с последующей реканализацией сосуда. Оксид азота вызывает дезагрегацию и вазодилатацию, и этим предупреждает излишний рост тромба. Тромбоциты выделяют ростовые факторы, что способствует репарации поврежденных тканей. Тромбоциты участвуют в воспалительных реакциях, обладают фагоцитарной способностью в отношении бактерий и вирусов, выделяют иммуноглобулины, лизоцим, стимулируют деятельность Т- и В-лимфоцитов.

В главе 4 подробно излагается механизм свертывания крови, в котором, наряду с тромбоцитами, участвуют многочисленные плазменные факторы гемостаза. Здесь же приводятся сведения о естественных антикоагулянтах. Весь процесс рассматривается как постоянное противодействие в сосудистом русле факторов свертывания крови и антагонистических влияний. Автор пишет: — В циркуляции осуществляется постоянное внутрисосудистое свертывание крови, которое в физиологических условиях не доходит до образования полимеризированного стабилизированного фибрина. Так же непрерывно идет растворение фибринмономерных комплексов, и потому в норме нет расстройств микроциркуляции. Динамическое равновесие этих противоположных процессов является жизненно необходимым и обеспечивается генетическими, нервными и гуморальными факторами. Значительный интерес представляет раздел «Тромбиновый парадокс», ибо тромбин, являясь единственным свёртывающим фактором, выступает и как мощный антикоагулянт, стимулятор и ингибитор фибринолиза, и одновременно обладает провоспалительным и антивоспалительным действием.

Говоря о причинах возникновения тромбоэмболических заболеваний, автор указывает на генетические и приобретенные поломки системы гемостаза, на важнейшую роль нарушений целостности сосудистой стенки (слущивание эндотелия, разрыв, атеросклеротические бляшки). Такой комплексный подход , несомненно, наиболее продуктивный путь научного анализа.

Глава 6 посвящена роли эритроцитов в процессе гемостаза. Автор очень детально характеризует морфологические свойства красных кровяных клеток, их состав и многообразные функциональные особенности. В этом одна из больших заслуг Б. И. Кузника — он рассматривает все стороны жизнедеятельности исследуемого предмета (кровеносный сосуд, тромбоцит, эритроцит, лейкоцит, биохимические параметры и т. д.) не только с позиций гемостаза, но и их участия в метаболизме, дыхании, транспорте, регуляции, взаимосвязях как в норме, так и при патологических состояниях. В этом отношении работы Б. И. Кузника с сотрудниками вышли на новый, высокий уровень развития науки и характеризуют взаимодействие эритроцитов с окружающей плазмой, особенности их деятельности в зависимости от генетических различий, новейшие сведения о строении и составе эритроцита и его мембраны. Большое внимание в главе уделено синтезу в эритроцитах оксида азота, его роли в сохранении реологических свойств эритроцитов, предупреждении агрегации тромбоцитов и т. д. В этой же главе рассмотрены особенности гемостаза в зависимости от групповых характеристик крови. Значительная часть главы посвящена участию эритроцитов в регуляции реологических свойств крови в норме и патологии. Автор стремится, сколь возможно глубоко, сопоставить экспериментальные, лабораторные наработки с клиническими данными, чтобы помочь врачу уяснить механизм развития болезни, ранней и более полной диагностики и оценки эффективности лечения.

В главе 7 продолжена оценка роли клеток крови в гемостазе — на этот раз лейкоцитов. Для этого автор, как и в предыдущих разделах книги, на самом современном уровне детально описывает морфологию, состав и функцию исследуемых клеток (нейтрофильных, эозинофильных, базофильных лейкоцитов, моноцитов, лимфоцитов). Каждая часть этого описания по насыщенности материала представляет собой ценнейший научный раздел. На большом экспериментальном материале автор приходит к выводу о сложных и противоречивых влияниях лейкоцитов на сосудисто-тромбоцитарный ге-

мостаза и свёртывание крови.

Книгой в книге можно считать главу 8, посвященную врожденному и приобретенному иммунитету и системе гемостаза. Это новое научное направление в иммунологии и гемостазеологии, созданное, благодаря в основном, идеям и работам Б. И. Кузника. Со свойственной ему тщательностью приводятся емкие сведения о современной трактовке фагоцитарной функции лейкоцитов, роли Toll-подобных рецепторов, «кислородного взрыва», протеолитических и липолитических ферментов, системы HLA, цитокинов и пр. Взаимодействие тромбоцитов и фагоцитоза, влияние на гемостаз; участие системы комплемента в процессе свертывания крови. Автор последовательно, опираясь на большой экспериментальный материал и клинические наблюдения, приходит к выводу о явном влиянии системы иммунитета на сосудисто-тромбоцитарный гемостаз, свертывание крови, фибринолиз. Но и система гемостаза, включающая массу биохимических и клеточных факторов, воздействует на состояние врожденного и адаптивного иммунитета.

В центральной, на мой взгляд, главе 9 автор анализирует взаимодействие всех форменных элементов крови и состояние системы гемостаза в норме и патологии. Автор проводит сложнейший анализ комплексного взаимоотношения клеток крови, их влияния друг на друга и совместного динамического многообразия воздействий на систему гемостаза. Б. И. Кузник дает исчерпывающую характеристику адгезивным молекулам, обеспечивающим контакт и взаимодействие между отдельными клетками крови и их связи с эндотелием. Особое внимание уделено взаимодействию тромбоцитов лейкоцитов и эритроцитов при воспалении, атеросклерозе и онкологических заболеваний. Автор подчеркивает наличие тесной связи между воспалением, тромбозом и атеросклерозом.

Глава 10 посвящена клеточным структурам различных тканей и их роли в процессе гемостаза. Особый интерес вызывает раздел, посвященный описанию ультраструктуры клеток и внутриклеточное «свертывание» цитоплазмы. Весьма ценной и оригинальной является также глава 11, в которой Б. И. Кузник исследует взаимосвязь свертываемости крови и лимфы. Следует заметить, что пионерские работы в этой области медицины проводились одновременно в Сибири В. П. Казначеевым, Ю. М. Левиным в Москве (клиническое направление) и группой Б. И. Кузника в Чите (экспериментальные и клинические работы). В руководимой мною клинике (г. Красноярск) мы получили отчетливый положительный результат лечения ряда заболеваний, используя методику лимфотропной терапии. Большое теоретическое и практическое значение этого нового направления в науке находит все большее подтверждение как в России, так и за рубежом.

В 12 главе автор с четких физиологических позиций исследует центральные и периферические механизмы регуляции системы гемостаза и постоянное внутрисосудистое свертывание крови. Гемостатическое равновесие в организме поддерживается, благодаря непрерывно происходящих процессов свертывания крови и растворения образовавшегося фибрина. Клеточный и органный уровни регуляции осуществляются по механизму обратной связи. Регуляция системы гемостаза обеспечивается вегетативной нервной и эндокринной системой, а также простагландинами, лейкотриенами, цитокинами и другими биологически активными соединениями. Однако основным эфферентным регулятором гемостаза является эндотелий сосудистой стенки, о чем подробно повествуется в этой главе.

Профессор Б. И. Кузник постоянно и много работает совместно с клиницистами, и среди его учеников и последователей много десятков врачей. Вся направленность его исследований, идей, методик — характеризует его как клинического физиолога. Поэтому совершенно логично выглядит присутствие в монографии главы — «Патогенетические механизмы тромбогеморрагического синдрома и диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови». Клиницистам известны эти противоречивые, динамичные, порой крайне тяжелые состояния больных любого возраста, начиная с новорожденных детей. В этой главе автор сопоставляет экспериментальные, лабораторные и клинические данные, показывая как защитный характер возникающих изменений гемостаза, так и напротив, на определенной стадии болезни — разрушительное их воздействие. Автор показывает, что если в начале патологического процесса боль-

шое защитное влияние оказывают белки теплового шока (HSP), то по мере прогрессирования болезни они существенно ухудшают состояние пациента, вызывая тромбоэмболические осложнения. Б. И. Кузник, совместно с клиницистами, разработал и предложил для лечения больных с ДВС-синдромом оригинальные методики, основанные на собственных экспериментальных разработках и работах нескольких групп читинских ученых. Наряду с методиками, широко применяемыми и в других клиниках, Б. И. Кузник предлагает иммуномодулирующие препараты, средства нормализации гемостаза, восстановления реологии крови и лимфы. При этом он подчеркивает важность применения препаратов, значительно усиливающих лимфоток и способствующих дренажу пораженного органа. К числу таких средств он относит биорегуляторы тималин, тактивин, вилон, тимоген, кортексин и другие цитомедины и цитогены.

Рецензируемая монография является большим вкладом в современную науку, будет способствовать возникновению и развитию новых идей и направлений. Она принесет реальную пользу теоретикам медицины, биологам, и особенно практическим врачам, клиницистам. Автор приводит свои критические взгляды практически по всем разбираемым вопросам и опирается при этом на факты, добытые им с сотрудниками. «Я могу об этом говорить, потому что я был там», — сказал мне Г. Селье в 1961 г. в Москве. Б. И. Кузник — признанный авторитет и он имеет свое мнение, заслуживающее большого уважения. Я считаю, что эта великолепная книга профессора Б. И. Кузника должна быть в каждой медицинской библиотеке, в каждой клинике. Она, несомненно, поможет широкому кругу специалистов в их повседневной работе

*Профессор Рапопорт Жан Жозефович.*
*rapojan@mail.ru*
*Израиль, Назарет*

# НИКОЛАЙ МОРОЗОВ
# Эссе на тему: «В МОЕЙ СЕМЬЕ ГЕМОФИЛИЯ»

Гемофилия не проклятье, это тяжелая жизнь для всей семьи. В религии понятие болезни — это испытание, данное нам богом за грехи. Может так оно и есть. У каждой такой семьи своё мнение, свои мысли…

Эта болезнь может являться смертельной угрозой для жизни, и ответственность за больного ложиться на всех членов семьи. А что же такое семья? Какова ее роль для любого человека? Семья - это всё. Это радость, счастье, благополучие, любовь, взаимопомощь. Семья - это место, где тебя поймут и помогут. Я думаю, что в этом состоит главная цель семьи. Она является главным богатством наряду со здоровьем, счастьем, и должна быть у каждого человека. Для гемофилика семья особенно имеет важное значение. А сколько одиноких женщин растят больных сыновей, любовь, заботу отдают, а благополучие, увы, дать не получается. Одинокой маме одной трудно противостоять такой болезни, потому что она сама нуждается в моральной и материальной поддержке.

В своей семье я окутан покрывалом, покрывалом, сотканным из любви моих родителей. Эта защита оберегает мой ещё не окрепший дух. Мне нравится в семье обсуждать свои проблемы, потому что я знаю меня поддержат и помогут. Всё планируется на возможности дать, создать, обеспечить меня. Благодарен государству, что оно нас, гемофиликов, стало обеспечивать жизненно необходимым лекарством.

Как в фильмах герои говорят: «Моя жизнь делится на до и после». Так и моя - до фактора и после фактора. До фактора я был сосредоточен на себе, вернее на своих болезненных ощущениях, постоянно мучили боли. Мои родные всегда были со мной. После фактора я почти стал вести полноценный образ жизни. Пошёл в школу.

Я сильно переживал, как меня встретят. Сколько трудностей в школе пришлось пережить, не сосчитать. Ведь мне уже было 11 лет, так как до этого я занимался на дому. Но всегда вспоминал мамино наставление. Она мне постоянно говорила: «Если ты чего то не знаешь, это не означает, что ты глуп. Просто ты можешь этому научиться».

Я следовал её словам и учился. Учился всему: отношению в коллективе с одноклассниками, учителями. Это общество, и я хотел быть в этом обществе. То, что обычный ребёнок воспринимает как естественное, для меня было ново. Внимательно на уроке слушать учителя мне не удавалось, постоянно отвлекался для того, чтобы посмотреть, что делают другие дети. Постепенно пришло осознание, для чего нужна мне школа. Ребята мне помогают, и я им отплачиваю чем могу.

Я стал строить планы на будущее, стремлюсь достичь поставленных перед собой целей. Все школьные мероприятия меня вдохновляют. К примеру, участвовал в соревнованиях по лыжам, к финишу пришел четырнадцатым из пятнадцати участников. Я не очень радовался этому. Но зато мама и папа были в восторге. Успокаивали меня: «Сынок не победа главное, а участие».

Пройдя многочисленные испытания и переживания, я понял, какую духовную силу и поддержку дают мне родители. Как мудро они заполняют мою жизнь, избавляя меня от уныния из-за моей болезни. И, к сожалению, я понял ещё одно, что моё будущее зависит и от поддержки государства. Как ни старайся, а в жизни ограничения остаются. К сожалению, меня лишили инвалидности, а с ней право на льготное поступление в институт.

Родители посвятили свою жизнь мне, не реализовали себя, работают на низко оплачиваемых должностях и не смогут дать мне высшего образования. Я хочу быть полноценным членом общества. Для чего мне это нужно? Хорошая работа даст возможность достойно зарабатывать на жизнь и создать семью. Вот и получается: гемофилия в моей семье - это всё сосредоточеннее на моей болезни. Материальные затраты на создание хороших условий для моего развития, затраты на лечение, на полноценное питание. Всё это тормозит семью в материальном благополучии и у меня не будет возможности стать тем, кем я хочу. Гемофилия в семье и в будущей моей семье - это тяжёлое испытание для всех её членов. Это проблемные трудности, связанные с моей болезнью. А ведь мне самому в будущем придется создавать условия для жизни своих детей. И всё то ценное, заложенное в меня моими родителями, я перенесу в свою семью.

# ПЕРЕДОВАЯ СТАТЬЯ

# Перспективы плазменно-антитромбинового комплекса при заместительной гемокомпонентной терапии ДВС-синдрома

**А.П. Момот[1], Я.Н. Шойхет[2], А.Н. Мамаев[1]**

**[1] – Алтайский филиал ФГБУ «Гематологический научный центр» Минздравсоцразвития России, г. Барнаул**

**[2] – ГБОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет» Росздрава, г. Барнаул**

Функционирование системы гемостаза человека предусматривает эффективное кровоснабжение тканей, предупреждение кровопотерь и тромбозов, ишемий и инфарктов органов, защиту от диссеминации бактерий и токсинов, инициирование и течение воспалительных и отграничительных реакций в крови и периваскулярном пространстве. В физиологических условиях соблюдается баланс между жидким и агрегатным состоянием крови. И это не только противостояние про- и антикоагулянтов, процессов активации и ингибирования функции тромбоцитов и фибринолиза. В системе гемокоагуляции действуют силы как самоускорения, так и самоторможения, в связи с чем процессы локального свертывания крови и тромбирования сосудов, как правило, ограничиваются местами повреждений сосудов и близлежащих тканей. И лишь при сверхпороговой, интенсивной активации этой системы и генерации в крови большого количества тромбина эти ограничительные механизмы становятся недостаточными, что ведет к развитию синдрома диссеминированного свертывания крови (ДВС), а при неправильном или запоздалом лечении часто заканчивается гибелью больного [9, 16].

Одним из важных проявлений ДВС-синдрома в ответ на факторы внешней или внутренней агрессии является блокада микроциркуляции в органах фибрином и агрегатами клеток крови с развитием сладжа и, вследствие этого, дистрофии и дисфункции органов-мишеней (или шок-органов). Раньше других и в наибольшей степени при этом страдают легкие, блокада микроциркуляции в которых с периваскулярным отеком приводит к неэффективному дыханию, гипоксии и другим метаболическим нарушениям. В наиболее тяжелых случаях этот процесс доходит до развития легочного дистресс-синдрома. Повреждение эндотелия и блокирование микроциркуляции с сопутствующим дисбалансом про- и антикоагулянтных систем крови, активаторов и ингибиторов фибринолиза при гнойно-деструктивных заболеваниях органов тесно связаны с фибринацией тканей вокруг очага деструкции и эффективным отграничением его или, наоборот, несостоятельностью первичного фибринового блока с прогрессированием вос-

палительного процесса, дальнейшим развитием ДВС-синдрома, септического шока, вторичным блоком легочной перфузии [4, 23, 33, 43, 47, 49].

В дальнейшем, в подострой фазе воспаления фибриновые депозиты, выполнившие свою биологическую роль, подлежат элиминации с помощью механизмов локального фибринолиза. Ведущее значение в этом принадлежит веществам лейкоцитарного происхождения (протеазам — эластазе гранулоцитов, катепсину G, катепсину D моноцитов, активным кислородным радикалам, ряде катионных белков), которые обладают не только бактерицидной активностью, но и мощным повреждающим потенциалом по отношению к собственным тканям [33, 62, 69, 71, 76].

Доказано, что определяющую роль в патогенезе, клинике и исходах острого ДВС синдрома играет тромбинемия и прогрессирующее истощение основных противосвертывающих механизмов с участием антитромбина Ш (АТ III), протеина С, тромбомодулина и ряда других, без восстановления уровня которых не может быть заблокирован процесс внутрисосудистого свертывания крови и ликвидирована тромбинемия [7, 10, 12, 13, 50].

Тромбин — ключевой фермент не только гемокоагуляции, но и в целом гемостаза, что определяется его многочисленными эффекторными воздействиями. Образуясь из неактивного предшественника — протромбина — эта сериновая протеиназа отвечает за следующие важнейшие функции:

- протеолиз фибриногена до фибрин-мономеров, которые спонтанно полимеризуясь, образуют сгусток фибрина, что происходит в жидкой фазе — кровотоке и в периваскулярном пространстве;
- активация факторов свертывания крови V, VII, VIII, XI и XIII (фибринстабилизирующего);
- активация агрегационной функции тромбоцитов;
- в комплексе с тромбомодулином тромбин активирует протеин С;
- способствует формированию так называемого активируемого тромбином ингибитора фибринолиза (TAFI), располагающегося на фибрине.

Напрямую взаимодействует тромбин и с эндотелием, при этом его собственные тромбогенные воздействия в значительной мере уравниваются антикоагулянтными, антиагрегантными и профибринолитическими (табл. 1).

Таблица 1.

**Основные эффекты тромбина при взаимодействии с сосудистой стенкой [22]**

| ПРЕИМУЩЕСТВЕННО АНТИКОАГУЛЯНТНЫЕ ЭФФЕКТЫ | ПРЕИМУЩЕСТВЕННО ПРОКОАГУЛЯНТНЫЕ ЭФФЕКТЫ |
|---|---|
| 1. Синтез и высвобождение простациклина (ингибитора агрегации тромбоцитов) | 1. Синтез и высвобождение фактора агрегации тромбоцитов (FAT) |
| 2. Синтез и высвобождение оксида азота (антиагреганта и вазодилятатора) | 2. Выброс в кровоток фактора Виллебранда |
| 3. Эспрессия активатора плазминогена тканевого типа (TPA) | 3. Экспрессия Р-селектина и адгезия лейкоцитов к эндотелию сосудистой стенки |
| 4. Связывание с тромбомодулином и последующая активация протеина С | 4. Повышение проницаемости эндотелиальной выстилки кровеносных сосудов |
| 5. Взаимодействие с АТ III и гепарином, а также с гепариноподобными субстанциями сосудистой стенки | 5. Экспрессия тканевого фактора (TF) и активация тканевого пути активации свертывания крови |
| 6. Высвобождение ингибитора внешнего механизма свертывания (TFPI) | 6. Высвобождение ингибитора активатора плазминогена тканевого типа (PAI-1) |
| | 7. Высвобождение провоспалительных цитокинов из эндотелиальных клеток |
| | 8. Пролиферация гладкомышечных клеток сосудов |

Роль тромбина не ограничивается вышеперечисленными воздействиями. Ключевая роль в процессе свертывания крови, активация сосудистого эндотелия, клеточный рост и процессы репарации, участие в онкогенезе, активация клеток крови, мобилизация фибринолитических реакций — все это наиболее изученные функции тромбина. Можно ожидать, что с успехами молекулярной биологии и дальнейшим изучением межклеточных взаимодействий этот список получит свое продолжение.

После того, как выяснилось, что ведущим звеном патогенеза острого ДВС-синдрома является процесс внутрисосудистого свертывания крови с преимущественным истощением резерва физиологических антикоагулянтов (с отстающим по времени потреблением факторов свертывания крови) и блокадой микроциркуляции в органах, было определено, что основным методом патогенетической терапии данного синдрома должна стать *заместительная терапия препаратами крови* в совокупности с внутривенными введениями гепаринов, хотя роль и целесообразность использования последних сегодня при распространенном микротромбообразовании оспаривается [5, 7, 9, 10, 13, 14, 16, 45].

Стратегически важным представляется получение ответа на вопрос — какими компонентами или препаратами крови следует воспользоваться для получения оптимального ответа при проведении такой заместительной терапии? При этом речь не идет о ситуациях, требующих восполнения дефицита тромбоцитов, эритроцитов или отдельных факторов свертывания крови, как это происходит, например, при тромбоцитопении потребления, гемофилии или болезни Виллебранда. Анализу этого вопроса в значительной мере и посвящена настоящая публикация, где будут рассмотрены ряд компонентов и подходы к заместительной гемотрансфузионной терапии, а именно к использованию:

- свежезамороженной плазмы (криоплазмы);
- криосупернатантной плазма (криосупернатанта);
- криоплазмы, ассоциированной с препаратом АТ III;
- обменного плазмафереаз (с замещением объема удаляемой плазмы больного свежезамороженной плазмой — с препаратом АТ III или без него).

Кровь, как известно, представляет собой важнейшую интегрирующую систему, обеспечивающую обмен метаболитами и информацией между тканями и клетками, пластическую и защитную функции организма, при этом протекая по закрытому контуру, она контактирует со всеми органами. Общая поверхность капилляров человеческого организма составляет примерно 1000 м$^2$. [42]. Кровь можно рассматривать и как жидкую ткань, находящуюся в постоянном и строго регламентируемом движении. Ей присущи ряд компонентов и фракций, выполняющих различную роль в защите и поддержании постоянства внутренней среды человека. Внутрисосудистые (преимущественно внутривенные) инфузии компонентов крови (донорской, аутокрови) имели и продолжают иметь принципиальное значение для лечения многих патологических состояний в клинике — в хирургии, интенсивной терапии, анестезиологии, акушерстве и гинекологии, педиатрии и др. Для этого в России имеется и зарегистрирован достаточно широкий спектр препаратов, получаемых в предназначенных для этого условиях из стабилизированной цитратом крови [37, 39, 42]. В их числе находится плазма, являющаяся жидкой частью крови, лишенной гравитационным путем или фильтрацией клеточных элементов (эритроцитов, лейкоцитов и тромбоцитов). Нормальный объем плазмы составляет около 4% общей массы тела (40–45 мл/кг), а ее белки определяют коллоидно-онкотическое давление и баланс с гидростатическим давлением; они же поддерживают в равновесном состоянии систему свертывания крови и ферментные системы, противостоящие тромбообразованию. Кроме того, плазма обеспечивает баланс электролитов и кислотно-щелочное равновесие крови. Принципиально важно учитывать, что плазма являет собой источник всех факторов свертывания крови, физиологических антикоагулянтов и компонентов фибринолитической системы, т.е. является средством восстановления нарушенного баланса про- и антикоагулянтных, а также фибринолитических резервов крови. Особое значение имеет *свежезамороженная плазма (СЗП),* приготовленная в течение 6 часов после после эксфузии крови при отделении от эритроцитов методами центрифугирования или афереза с помещением в низкотемпературный холодильник, обеспечивающем

замораживание плазмы до температуры –30° С в течении 1 часа. Такой режим заготовки плазмы в соответствии действующими правилами [Совет Европы, United Kingdom Blood Transfusion Services/National Institute for Biological Standarts and Control, 2002] обеспечивает ее длительное (до года) хранение с высокой сохранностью всех отмеченных компонентов гемостатических реакций [2, 3, 5, 6, 10, 52, 58, 67, 70, 78].

Начиная с 70-х годов отечественными специалистами была отмечена высокая эффективность массивных струйных трансфузий СЗП при заместительной терапии многих неотложных и терминальных состояний [2, 3, 10, 41, 45]. По оценке академика А. И. Воробьева предложение по использованию СЗП для лечения диссеминированного внутрисосудистого свертывания изменило всю стратегию борьбы с массивными кровопотерями в родах, во время операций и других критических состояниях. Благодаря этому были спасены тысячи жизней, в том числе во время техногенных и природных катастроф [17].

Объем СЗП, полученный методом центрифугирования из одной дозы крови (около 500 мл в смеси со стабилизатором), составляет ориентировочно от 200 до 250 мл. При проведении двойного донорского плазмафереза выход плазмы может составить 400–500 мл, а аппаратного плазмафереза — до 600 мл.

**Технология трансфузий СЗП** (по З. С. Баркагану и А. И. Воробьеву [4, 9, 16])

*Внутривенно методом «быстрой капли» вводят в 1–3 приема до 1–2 л СЗП под контролем центрального венозного давления. Общая суточная доза варьирует в зависимости от клинической ситуации в пределах 800–4000 мл, но не менее, чем 15–25 мл/кг массы тела). Поскольку СЗП является объемным кровезаменителем, ее количество должно быть учтено при расчете общего количества вводимых жидкостей (полиглюкина, крахмала и др.). Переливания СЗП должны всегда предшествовать трансфузиям эритроцитной массы (если для последних имеются показания), в этом случае соотношение объемов этих сред должно быть не менее 3:1. Это связано с тем, что компоненты красной крови, не разбавленные плазмой и плазмозамещающими растворами, увеличивают блокаду микроциркуляции в органах-мишенях и способствуют углублению сладжа эритроцитов и синдрома полиорганной недостаточности.*

Эта методика с небольшими вариациями используется повсеместно и рекомендуется всеми отечественными и зарубежными руководствами по трансфузиологии [32, 42, 59]. Отметим, что среди компонентов крови по объему применения в клинической практике СЗП занимает первое место в мире. Только в США ежегодно используется 1,8–2,0 млн. доз криоплазмы [38].

Существенным отличием отечественных рекомендаций по применению СЗП состоит в том, что в нашей стране постулируется необходимость возможно более раннего введения этого препарата, тогда как во многих зарубежных рекомендациях она назначается лишь при уже развившейся кровоточивости и гипокоагуляции (по стандартам американских патологов 1994 г. — при наличии удлинения показателя протромбинового времени свертывания или активированного парциального тромбопластинового времени — АПТВ в 1,5 раза и более от значений в контрольной нормальной плазме и выявлении менее 25% факторов свертывания) [37, 42]. Такая тактика, на наш взгляд, способна быть запоздалой реакцией, не всегда эффективной на фоне прогрессирования патологии и формированиии полиорганной недостаточности.

В соответствии с Инструкцией по применению компонентов крови *(приказ Минздрава РФ от 25.11.2002 г. № 363)* показаниями для применения СЗП являются:

- острый синдром диссеминированного внутрисосудистого свертывания (ДВС), осложняющий течение шоков различного генеза (септического, геморрагического, гемолитического) или вызванный другими причинами (эмболия околоплодными водами, крашсиндром, тяжелые травмы с размозжением тканей, обширные хирургические операции, особенно на легких, сосудах, головном мозге, простате), синдром массивных гемотрансфузий.
- острая массивная кровопотеря (более 30% объема циркулирующей крови) с развитием геморрагического шока и ДВС-синдрома;
- болезни печени, сопровождающиеся снижением продукции плазменных факторов свертывания и, соответственно, их дефицитом в циркуляции (острый фульминантный гепатит, цирроз печени);

- передозировка антикоагулянтов непрямого действия (варфарин, варфарекс и др. кумарины);
- при выполнении терапевтического плазмафереза (с плазмозаменой) у больных с тромботической тромбоцитопенической пурпурой (болезнь Мошковиц), тяжелых отравлениях, сепсисе, остром ДВС-синдроме;
- коагулопатии, обусловленные дефицитом плазменных физиологических антикоагулянтов.

Наряду с этим трансфузии СЗП считаются малоэффективными при коррекции кровотечений у больных с тяжелыми заболеваниями печени — основным поставщиком про- и антикоагулянтов, где дозы криоплазмы должны быть резко увеличены (в 5 раз и более), что, однако, может приводить к проблемам, связанным с гиперволемией и опасностью интерстициального отека легких [42, 78].

Переливания СЗП могут рассматриваться и как потенциально тромбогенное внешнее воздействие, несмотря на сбалансированную систему в ней про- и антикоагулянтов и присутствие консерванта — цитрата натрия, связывающего ионы Са и предотвращающего спонтанное фибринообразование [64]. Для снижения тромбогенности плазмы in vivo в соответствии с современными рекомендациями СЗП комбинируют с введениями малых доз гепарина — из расчета 1–2 тыс. МЕ на каждые 400–500 мл плазмы, при отсутствии прямой угрозы усиления кровотечения [9].

Опыт нашей клиники показывает, что включение в терапию только гепарина даже в больших дозах (30–40 тыс ед/сут), хотя и облегчает течение заболевания и способствует ослаблению инфекционно-септического ДВС-синдрома, если в крови больных сохраняется еще достаточный уровень АТ III, но не обеспечивает деблокирования микроциркуляции в органах, мало влияет на интенсивность общего и локального протеолиза. Объясняется это известным феноменом неспецифического связывания гепарина с белками «острой фазы воспаления» — фибриногеном, С-реактивным белком, α1-кислым гликопротеидом и др., концентрация которых в крови и пораженных тканях при воспалительных и инфекционно-деструктивных процессах резко нарастает [11, 34, 45].

Подчеркнем, что при лечении острого и подострого ДВС-синдромов большинство авторов не прибегает к рекомендовавшейся ранее гепаринотерапии (путем длительных инфузий под контролем активированного парциального тромбопластинового времени — АПТВ или АЧТВ) [9]. В ряде рандомизированных исследований было показано, что гепаринизация в таких условиях нередко усиливает тенденцию к кровоточивости, не оказывая существенного влияния на течение и исходы ДВС-синдрома. Наряду с этим гепарин усиливает потребление в крови антитромбина III и в той или иной степени потенцирует агрегацию тромбоцитов [35, 57, 61, 68].

С другой стороны обычный или низкомолекулярный гепарин в профилактических или лечебных дозах является основой лечения хронического ДВС-синдрома, протекающего с персистирующей гиперкоагуляцией, тромбинемией, блокадой микроциркуляции в органах и тромбозами магистральных сосудов, в частности, в онкологической практике и ортопедии [8, 15, 66].

В клинической практике используется также продукт переработки СЗП — криосупернатантная плазма (КСП), коагуляционный потенциал которой значительно снижен в процессе переработки. Ее получают после удаления по специальной технологии из донорской плазмы криопреципитата — смеси мало устойчивых к низкой температуре белков плазмы (криоглобулинов), в число которых входят фибриноген, фактор VIII, фактор Виллебранда и фибронектин [25].

Криопреципитат достаточно широко применялся в мире и в России для профилактики или купирования кровотечений, обусловленных дефицитом фактора VIII и/или фактора Виллебранда (при гемофилии А и болезни Виллебранда) поскольку ранее были малодоступны очищенные препараты из крови или их рекомбинантные аналоги. Использование криосупернатанта как побочного продукта переработки плазмы для лечения больных стало возможным после публикаций об успешном применении этой фракции плазмы при тромботической тромбоцитопенической пурпуре и гемолитико-уремическом синдроме, в основе патогенеза которых лежит избыток высокомультимерных форм фактора Виллебранда, активирующих тромбоциты [37,56, 60]. Этому способствовали также рабо-

ты В. А. Елыкомова и соавт. [24, 26, 27, 28, 48], в которых была доказана высокая эффективность КСП при заместительной терапии у больных с инфекционно-септическим ДВС-синдромом, причем трансфузии этого компонента плазмы отличались низкой тромбогенностью и не требовали в большинстве случаев так называемого «прикрытия» гепарином. В немалой степени эти результаты лечения были обоснованы тем, что криосупернатант содержит по сравнению со СЗП в среднем в 1,9 раза меньшее количество фибриногена, в 5,6 раза меньшую активность фактора VIII, в 8,2 раза меньшее количество фактора Виллебранда и в 3,3 раза меньшее количество фибронектина при том, что в нем сохраняется активность физиологических антикоагулянтов и компонентов фибринолиза в сравнении с исходной, стабилизированной цитратом плазмой [24]. Близкие данные приводит и Shehata N. et al. [77], согласно которым КСП обеднена фактором VIII и фибриногеном (концентация фактора VIII около 0,11 МЕ/мл, а уровень фибриногена может сохраняться до 70% от исходного). КСП имеет низкое содержание высокомолекулярных мультимеров фактора Виллебранда, но содержит металлопротеиназу этого фактора (ADAMTS-13), направленную на снижение мультимерности.

Несмотря на перспективность данного препарата крови он пока не получил широкого распространения в отечественной трансфузиологии поскольку потребность в криопреципитате в последние годы заметно снижается в связи с появлением на фармацевтическом рынке России очищенных вирусинактивированных факторов VIII и Виллебранда. В соответствии с принятым «Протоколом ведения больных. Гемофилия», утвержденным Министерством здравоохранения и социального развития РФ 30.12.2005 г. этот компонент плазмы крови не рекомендован для лечения больных гемофилией А [18]. Таким образом, сокращается и сырьевая база для производства КСП.

СЗП может иметь неодинаковые свойства в соответствии с состоянием здоровья доноров и особенностей воспроизведения технологии на производстве компонентов крови, пока отсутствуют общепринятые критерии гемостатических норм этого компонента крови (за исключением активности фактора VIII), однако ее состав в сравнении с КСП более приближен в составу крови и в ней в более полной мере соблюдается ***баланс*** всего спектра ферментативных систем, отвечающих за обеспечение гемостатических процессов как в кровеносном русле, так и в ближайшем его микроокружении.

Таким образом, трансфузии СЗП остаются базисным и наиболее важным компонентом терапии ДВС-синдрома. Высокая эффективность этого метода лечения связывается, как указывалось выше, с восстановлением у больных антитромботического потенциала крови, замещением всех физиологических антикоагулянтов, факторов свертывания крови, компонентов фибринолиза, что является необходимой предпосылкой купирования процесса и деблокады микроциркуляции в органах при инфекционно-септических и других видах ДВС-синдрома.

На какие лечебные и технологические недостатки СЗП можно обратить внимание лечащему врачу:

1. Вероятность потенциальной вирусинфицированности крови донора — источника СЗП;

2. Отсутствие стандартизированного подхода к качеству про- и антикоагулянтных параметров СЗП, которые, как известно, могут варьировать в зависимости от состояния здоровья донора. Критериями качества СЗП сегодня являются: концентрация общего белка не менее 60 г/л, уровень гемоглобина менее 0,05 г/л, уровень калия менее 5 ммоль/л. При этом уровень печеночных трансаминаз должен быть в пределах нормы. В отдельных случаях регламентируется активность фактора VIII, которая в размороженной СЗП должна быть не менее 0,7 МЕ/мл, по крайней мере, в 75% анализируемых доз [37, 59].

3. Вариабельность процедуры размораживания и согревания СЗП (до +37°С) перед парентеральным введением больному, влияющей на ее качественные показатели (активность факторов свертывания крови, физиологических антикоагулянтов, участников фибринолитических реакций и др.).

4. Возможность избыточной перегрузки кровеносного русла этим объемным кровезаменителем с вероятностью развития интерстициального отека легких (легочного дистресс-синдрома взрослых), что исключается тщательным контролем гемодинамических по-

казателей и центрального венозного давления.

Кроме того, следует учесть возможность развития аллергических реакций и анафилаксии, а также гемолиза вследствие переливания антител к групповым антигенам эритроцитов, особенно А и В.

Наиболее тяжелым риском при переливании СЗП признается возможность передачи вирусных и бактериальных инфекций от донора реципиенту [37, 42]. В мире накоплен опыт клинического применения двух видов вирусинактивации плазмы — подвергнутой воздействию метиленовым синим и видимым светом или обработанной методом «растворитель-детергент» [81].

Вероятность вирусной контаминации СЗП заметно снижена принятой в России программой карантинизации плазмы крови, способной в большинстве случаев учесть варианты серонегативного ответа в ранние сроки заражения доноров возбудителями вирусного гепатита и ВИЧ. В этом отношении представляется также перспективной к широкому использованию в профильных учреждениях здравоохранения недавно зарегистрированной в Российской Федерации технологии инактивации вирусов в образцах донорской плазмы с применением системы «Терафлекс-МБ-Плазма» (ФС–2007/195 от 18.09.2007), предусматривающей последовательное проведение лейкофильтрации, смешивание с красителем метиленовым синим и облучение световым излучением с длиной волны в области максимума адсорбции красителя (590 нм). При этом активация молекул красителя ведет к образованию активных форм кислорода, оказывающего повреждающее действие на генетический аппарат оболочечных и безоболочечных вирусов с инактивацией их репликации.

Продолжая рассмотрение обозначенных проблем, связанных с лечебным применением СЗП отметим решающее влияние на активность содержащихся в ней факторов свертывания и антикоагулянтов режима подготовки плазмы к трансфузиям. Работа Н. А. Воробьевой с соавт. [21] показала, что принятая в России технология размораживания СЗП методом простого теплообмена на водяной бане при температуре +37°С приводит к снижению ее антикоагулянтного потенциала, в среднем, на 30%, несмотря на первоначальный оптимальный режим замораживания и хранения криоплазмы, причем разброс активности антитромбина III в отдельных образцах СЗП может достигать от 30 до 140% (!). Использование микроволновых подогревателей уменьшает время размораживания до 2–3 минут, однако их применение ограничивает серьезный недостаток — образование «горячих» точек в содержимом контейнера вследствие интерференции волновых процессов, что приводит к частичной денатурации белков плазмы [37]. Оптимальным признается получение СЗП путем размораживания плазмы методом мембранного воздушного теплообмена. Однако, поскольку лечебные учреждения нашей страны не располагают отечественными устройствами для этой цели перспективным может быть использование импортных, зарегистрированных в России приборов, к примеру, линейки SAHARA (Transmed), обеспечивающих размораживание и подогревание компонентов крови нагретым форсированным воздушным потоком. Важно учитывать также, что пластиковые мешки с замороженной плазмой отличаются высокой хрупкостью и оттаивать их необходимо таким образом, чтобы исключить микробную контаминацию.

Одна из главных ошибок применения СЗП в терапии ДВС-синдрома состоит в использовании ее в недостаточных объемах, а также замедленных темпов внутривенного введения. Сотрудницей нашего центра Н.К. Зяблицкой [31]. показано, что в тех лечебных учреждениях, где СЗП применялась по 350–750 мл/сут, летальность при остром и подостром ДВС-синдроме оказалась вдвое выше, чем в тех случаях, где препарат вводился внутривенно по 800–1500 мл и более. Для подтверждения этого тезиса было выполнено ретроспективное исследование эффективности заместительной терапии различными дозами СЗП, результаты которого приведены ниже.

Под наблюдением находились 102 больных с ДВС-синдромом (в возрасте от 15 до 68 лет) из 7 клиник г. Барнаула (табл. 2). Учитывались основные клинические проявления этого синдрома (нарушения функции жизненно важных органов, кровоточивость), показатели летальности, оценивалась динамика активности физиологических антикоагулянтов, а также уровня плазминогена и D-димера по методам, описанным в руководстве по диагностике нарушений гемостаза [12].

Таблица 2.

**Данные о распределении обследованных групп больных по этиологии ДВС-синдрома**

| Группы больных | Число наблюдений | |
|---|---|---|
| | абс. число | % |
| 1. Инфекционно-септический ДВС-синдром, в том числе при: | 68 | 66,7 |
| – сепсисе | 16 | 15,7 |
| – пневмонии | 38 | 37,2 |
| – пиелонефрите и паранефрите | 10 | 9,8 |
| – инфицированной травме | 2 | 2,0 |
| – остром эндометрите | 2 | 2,0 |
| 2. Акушерский ДВС-синдром, в том числе при: | 13 | 12,7 |
| – эклампсии | 5 | 4,9 |
| – антенатальной гибели плода | 8 | 7,8 |
| 3. ДВС-синдром при ожоговой болезни в стадии ожогового шока и токсемии | 13 | 12,7 |
| 4. Послеоперационный и посттравматический ДВС-синдром | 8 | 7,9 |
| **Всего:** | **102** | **100,0** |

Анализ частоты основных клинических проявлений у этих больных при разной интенсивности плазмотрансфузий приведен на рисунке, из которого становится ясным, что использование СЗП в объеме 300–750 мл/сутки у больных достоверно чаще сопровождается полиорганной недостаточностью и кровотечениями, что указывает в пользу более тяжелого течения ДВС-синдрома. Это подтвердил и учет исходов заболевания в течение первого месяца с начала острого периода. Из табл. 3 видно, что в группе больных с ДВС-синдромом, получавших заниженные дозы СЗП, летальность оказалась в 2,4 раза большей ($P<0,05$), в сравнении с группой, где помимо влияния всех привходящих факторов (тяжесть состояния, раннее начало лечения, адекватность антибиотикотерапии, особенности оперативного вмешательства), проводилась адекватная по объему криоплазменная терапия .

Таблица 3.

**Прогностическое значение трансфузий разных доз СЗП у больных с острым и подострым ДВС-синдромом**

| Исходы | Трансфузии СЗП (300–750 мл/сут) | | Трансфузии СЗП (800–2000 мл/сут) | |
|---|---|---|---|---|
| | абс. число | % | абс. число | % |
| Благоприятный | 47 | 75,8 | 36 | 90,0 |
| Летальный | 15 | 24,2 | 4 | 10,0 |
| Всего: | 62 | 100,0 | 40 | 100,0 |

В рамках этого исследования представляла интерес динамика параметров гемостаза до и после проведенного лечения (через 6-9 дней от начала комплексной терапии, включавшей трансфузии разных объемов СЗП). В соответствии с полученными данными (табл. 4) исходные нарушения были примерно одинаковы в обеих группах наблюдений. В то же время у пациентов, получавших 300-750 мл СЗП в сутки, активность АТ III повысилась в среднем лишь на 17,3% и

Таблица 4.

**Динамика активности АТ III, системы протеина С, уровня плазминогена и D-димера у больных с ДВС-синдромом при различных исходах**

| Исходы | Методы исследования | Методы исследования | | | | $p_{1-2}$ |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | до начала трансфузий СЗП (1) | | через 6–9 дней от начала лечения (2) | | |
| | | X/P | ± m | X/P | ± m | |
| Благоприятный (А) | АТ III,% | 61,0** | 2,9 | 92,7* | 2,6 | < 0,001 |
| | Нарушения в системе протеина С, нормализованное отношение | 0,63** | 0,02 | 0,80** | 0,02 | < 0,001 |
| | Плазминоген, % | 56,4** | 2,0 | 83,6** | 4,2 | < 0,001 |
| | D-димер, нг/мл | 990,0** | 151,5 | 400,0* | 66,9 | < 0,001 |
| Летальный (Б) | АТ III,% | 58,1** | 3,6 | 66,3** | 5,0 | < 0,2 |
| | $P_{А-Б}$ | > 0,5 | | < 0,001 | | |
| | Нарушения в системе протеина С, нормализованное отношение | 0,60** | 0,03 | 0,61** | 0,03 | > 0,5 |
| | $P_{А-Б}$ | > 0,5 | | < 0,001 | | |
| | Плазминоген, % | 48,5** | 4,0 | 53,0** | 5,9 | < 0,5 |
| | $P_{А-Б}$ | < 0,1 | | < 0,001 | | |
| | D-димер, нг/мл | 1750,0** | 125,0 | 715,0** | 75,0 | < 0,001 |
| | $P_{А-Б}$ | < 0,001 | | < 0,01 | | |

оставалась сниженной у 29,0 % больных, тогда как после ежедневных трансфузий СЗП в объеме 800–2000 мл/сутки эта активность увеличилась в среднем на 40,2% и достигла уровня нормальных значений (>80%). Такие же закономерности наблюдались нами и по сдвигам в системе протеина С и фибринолиза (уровню плазминогена).

Анализируя по той же таблице изменения содержания в плазме крови D-димера, можно отметить, что уровень этого маркера тромбинемии и реализованого фибринолиза до начала терапии СЗП наиболее высок в группе наблюдений с неблагоприятным исходом и минимален — у выживших больных после окончания трансфузий СЗП. Сохранение высокого уровня D-димера после такого курса криоплазменной терапии (наряду с этиотропной и др.) может свидетельствовать о недостаточном восстановлении (деблокаде) микроциркуляции жизненно важных органов и тяжести состояния.

Приведенные выше данные свидетельствуют в пользу того, что у больных с ДВС степень снижения активности АТ III и концентрации плазминогена, а также стабильно высокий уровень D-димера в плазме крови, прямо связаны с эффективностью криоплазменной терапии и выраженностью органной недостаточности. Недостаточные по объему трансфузии СЗП (300–750 мл/сутки) оказались прогностически неблагоприятными, поскольку не было достигнуто ***устранение дисбаланса*** плазменных протеолитических систем. Обратим внимание также на то, что четыре из 19 умерших больных в составе комплексной терапии получали достаточные по объему количества плазмы (15–25 мл/кг массы в сутки), однако их состояние прогрессивно ухудшалось и активность плазменного АТ III на этом фоне оставалась весьма низкой — в диапазоне от 48% до 61%. Дальнейшее наращивание объемов трансфузий плазмы в этих случаях рассматривалось как весьма проблематичное, учитывая нарастающие острую почечную и дыхательную недостаточность, а также опасность развития интерстециального отека легких.

Соответственно, нельзя быть уверенным в том, что назначая расчетные дозы СЗП (15–20 или 25 мл/кг массы тела в сутки) лечащий врач может гарантировать их достаточную лечебную эффективность. Мы считаем, что важным дополнением антикоагулянтных свойств криоплазмы может быть достигнуто не гепарином, обладающим рядом негативных последствий своего применения, а природным плазменным или рекомбинантным препаратом АТ III. С этой целью перспективно, на наш взгляд, применение зарегистрированного в России препарата «Антитромбин III человеческий» (Baxter), получаемого из донорской плазмы.

Существует точка зрения и рекомендации отечественных специалистов, согласно которым при лечении острого ДВС-синдрома трансфузии СЗП могут быть заменены парентеральными введениями препарата АТ III [20, 40]. Об этом же свидетельствуют и работы зарубежных авторов, показавших в целом, что с помощью данных препаратов удается повысить до нормального уровня концентрацию АТ III в крови как у животных в эксперименте, так и у больных с септическим ДВС-синдромом [53, 63, 75, 80]. Показательно в этой связи, что при депрессии активности АТ III в плазме крови увеличивается как частота возникновения сепсиса у хирургических больных, так и летальность [54]. Некоторые авторы считают интенсивное потребление плазминогенна, его активаторов и АТ III в определенных клинических ситуациях ранними симптомами септицемии [55].

Тем не менее, мы считаем подход к ***обособленному*** назначению инфузий АТ III для лечения острого ДВС не вполне верным, учитывая, что плазменные факторы свертывания крови и ингибиторы системы гемостаза эффективно функционируют лишь в определенном микроокружении. Например, активность факторов IX, X, протеина С, АТ III в присутствии своих кофакторов (соответственно факторов VIII, V, протеина S, гепарансульфата) возрастает в десятки тысяч раз [22]. Не менее значима в этом контексте и роль так называемых микровезикул — мембранных фрагментов, отделяемых при активации и апоптозе тромбоцитов, эндотелиоцитов и моноцитов, и обладающих направленной на гемостаз активностью (участие в сборке факторов свертывания в теназный (IXa с VIIIa) и протромбиназный (Xa с Va) комплексы, инактивации факторов Va и VIIIa) [30]. Кроме того необходимо учитывать важное участие в формировании противосвертывающего потенциала плазмы и других, сдерживающих свертывание крови антикоагулянтов — протеинов С и S, ингибитора тканевого пути активации свертывания крови (TFPI), тромбомодулина и др. (табл. 5).

Применение препарата АТ III представляется логически и патогенетически обоснованым при изолированном его дефиците, например, при наследственном дефиците, гепарин-индуцированном снижении активности АТ III, повышенной потере при нефротическом синдроме и ряде других, но несомненно, что преимущество его изолированного использования утрачивается при сочетанном или комбинированном дефиците плазменных компонентов крови, ответственных за сдерживание и диссеминацию внутрисосудистого микротромбообразования — ДВС-синдрома.

Остановимся более подробно на строении, роли и месте АТ III в защитных реакцях организма, участии его в предохранении от диссеминации свертывания крови, ограничении воспалительного ответа и блокировании ангиогенеза, как одного из решающих факторов опухолевой прогрессии.

По химической структуре АТ III представляет собой одноцепочечный $\alpha_2$-гликопротеид с молекулярной массой 58,2 кДа, структура и функция которого позволяет отнести его к семейству серпинов — ингибиторов сериновых протеиназ [29]. Синтез данного белка происходит в эндотелии кровеносных сосудов и гепатоцитах, при этом содержание его в плазме составляет 140–200 мкг/мл, а период его полужизни в физиологических условиях (в случае нормокоагуляции и отсутствии лечебной гепаринизации) составляет 48–72 ч. Известно, что сам по себе АТ III обладает сравнительно низкой, или, как принято обозначать, «прогрессивной» антикоагулянтной активностью, добавление же к нему гепарина усиливает ингибиторную способность (по образованию комплекса тромбин-антитромбин) в 1000–5000 раз. [79].

АТ III относится к наиболее значимым ингибиторам системы свертывания крови, поскольку на его долю приходится около 80% общего антикоагулянтного потенциала. Интересно,

что количества находящегося в крови здорового человека АТ III достаточно, чтобы ингибировать в три раза больше тромбина, чем может образоваться из циркулирующего в крови предшественника — протромбина (фактора II). Несмотря на это, при снижении активности АТ III в плазме ниже 70% риск патологического тромбообразования прогрессивно возрастает и он тем больше, чем значительнее дефицит этого антикоагулянта. Падение активности АТ III до уровня 30–50% от физиологической нормы приводит уже к генерализованной, ничем не сдерживаемой тромбинемии и массивным тромбозам в сосудах любого калибра. В этом случае период полужизни АТ III резко укорачивается и может составлять лишь несколько часов (особенно в присутствии лечебных доз гепарина). Этим обуславливается механизм формирования так называемых парадоксальных тромбозов — когда продолжение гепаринотерапии приводит не к сдерживанию коагуляции, а к выраженному тромбообразованию.

Итак, рассматриваемый антикоагулянт автономно или в комплексе с гепарином (или гепарансульфатом) ингибирует активированные факторы II, X, IX, XI, XII и XIII, калликреин и плазмин [29,51], при этом решающее значение имеет ограничение активности факторов IIa (тромбина) и Xa. Наиболее эффективно АТ III «работает» в токе крови, поскольку в составе протромбиназного комплекса на фосфолипидной поверхности мембран клеток крови фактор Xa лучше защищен от ингибирования комплексом гепарин-АТ III. Взаимодействие АТ III с экзогенным гепарином, а также с отрицательно заряженными гликозаминогликанами, такими, как гепарансульфат, входящий в структуру гликокаликса на поверхности эндотелиальных клеток, на короткое время формирует мощный антикоагулянтный щит. В последующем, после образования эквимолярного (1:1) комплекса тромбин-антитромбин (ТАТ) гепарин может освобождаться для организации других аналогичных комплексов. В то же время в составе ТАТ тромбин и АТ III быстро теряют свою активность, а сам комплекс из кровеносного русла элиминируется клетками печени в течение нескольких минут [1, 74].

Наряду с блокированием активации свертывания в плазменном звене гемостаза АТ III проявляет себя и сдерживающим фактором воспалительных реакций, в частности, путем блокирования тромбин-опосредованной фиксации и перемещения (роллинга) нейтрофилов и моноцитов по поверхности эндотелиальных клеток кровеносных сосудов. Кроме того он способствует синтезу простациклина (PG I2) эндотелиоцитами, тем самым выступая, по сути, как эндотелиопротектор, так и ингибитор воспалительных клеточных реакций [73].

Возможно важная и по достоинству не оцененная роль АТ III, особенно в комплексе с низкомолекулярными гепаринами заключается и в подавлении ангиогенеза, в связи с блокировании им пролиферации эндотелиальных клеток капилляров кровеносного русла [79]. Эти функции АТ III еще должны быть осмыслены, тем более учитывая данные о соотношении распределения этого антикоагулянта в крови, эндотелии сосудов и ближайшем периваскулярном пространстве. Мы полагаем, что целесообразность присутствия АТ III за пределами сосудистой зоны определяется физиологическим механизмом обеспечения метаболизма и доставки кислорода в окружающие микрососуды ткани. Повышенная проницаемость сосудистой стенки для плазмы и ее компонентов (прежде всего фибриногена) наряду с депрессией внесосудистого антитромбина III способна приводить к патологическому фибриновому блоку в толще тканей. Последний, создавая зону обсервации, выполняет важную роль в отграничении патологического процесса от здоровых и функциональных тканей, фиксации патогенного начала, однако, с другой стороны, приводит к гипоксии и нарушениям обмена в зоне патологического очага.

Рассматривая противосвертывающий потенциал плазмы крови нельзя обойти и вторую по значимости физиологическую антикоагулянтную систему — систему протеина С, все компоненты которой в полной мере присутствуют в криоплазме. Данный механизм ограничения фибринообразования включает в себя протеин С, его кофактор — протеин S, тромбомодулин (мембранный белок, вырабатывающийся эндотелиоцитами кровеносных сосудов) и рецептор протеина С на эндотелиальных клетках. Протеины С и S — витамин-К-зависимые белки плазмы, синтезирующиеся в клетках печени. Известно, что активированный протеин С (АПС) в присутствии протеина S способен блокировать и лизировать факторы Va и VIIIa, расположенные на

мембране активированных тромбоцитов, а также ингибитор тканевого активатора плазминогена (PAI-1). Нейтрализация последнего приводит к усилению фибринолитических реакций, что увеличивает противотромботические воздействия. Основная активация протеина С происходит на поверхности эндотелиальных клеток, где он связывается со своим рецептором и взаимодействует с комплексом тромбин-тромбомодулин. Это уникальный механизм нейтрализации тромбина, поскольку результатом реакции является активация протеина С, а тромбин, входящий в указанный комплекс, необратимо теряет способность к превращению фибриногена в фибрин [12, 29].

Активность протеина С в плазме крови здоровых людей находится в пределах 75–125%, в то же время значительное снижение его активности при сепсисе приводит к тромбозам и периферическим некрозам тканей конечностей. В связи с этим при сепсисе и злокачественной пурпуре новорожденных, когда уровень протеина С снижен изначально ввиду физиологических особенностей функционирования печени ребенка, считается целесообразным внутривенное введение концентрата протеина С (препарат «Цепротин»). Для лечения тяжелого сепсиса ряд авторов рекомендует также применение активированной формы протеина С (препарат «Зигрис») [65, 72].

Тем не менее можно видеть, что замещение только дефицита АТ III с применением его очищенного препарата, а равным образом и дефицита протеина С, не отвечает задаче восполнения всего спектра про- и антикоагулянтов, а также компонентов фибринолитической системы при диссеминированном внутрисосудистом свертывании крови. Мы считаем, что устранение дисбаланса всех указанных протеолитических систем, отвечающих за гемостаз, может быть достигнуто при ДВС лишь в случае систематических трансфузий достаточных объемов СЗП. Такая тактика позволит врачу не только исправить диспропорции во взаимодействиях ферментативных систем крови, но и установить новый уровень баланса, способного обеспечить как сохранение жидкого состояния крови в неповрежденных сосудах, так и остановку кровотечения при повреждениях и травмах. Однако, учитывая потенциальный риск перегрузки сосудистого русла массивными введениями криоплазмы считаем перспективным при заместительной терапии острого ДВС-синдрома использовать СЗП не изолированно, а в смеси с препаратом АТ III. Такой подход дает принципиальную возможность:

1. Обеспечить возмещение всего спектра плазменных участников гемостатических реакций.

2. Снизить трансфузионную нагрузку на циркуляцию и исключить вероятность интерстициального отека легких при массивных трансфузиях (1–2 л/сут) и высоком центральном венозном давлении (в т.ч. при острой почечной недостаточности);

3. Уменьшить риск вирусинфицирования из-за уменьшения числа востребуемых доз криоплазмы и гарантированной двойной вирусинактивации препарата АТ III;

4. Ускорить и повысить эффективность заместительной терапии (препарат АТ III не требует размораживания и активность его высоко стандартизирована, в отличие от СЗП).

Таким образом может быть обеспечено негепариновое усиление антикоагулянтных свойств свежезамороженной плазмы при заместительной гемотрансузионной терапии острого ДВС-синдрома.

Можно отметить, что предлагаемая технология более экономична в сравнении с использованием для заместительной терапии только препарата АТ III, поскольку доза последнего в смеси с криоплазмой может существенно снижаться. В частности отметим, что в соответствии к Инструкцией к препарату «Антитромбин III человека» (Baxter), с фасовкой на 500 и 1000 МЕ (соответствующей количеству АТ III в 500 или 1000 мл плазмы крови) при ДВС-синдроме доза антикоагулянта определяется необходимостью восстановления АТ III до 120% активности (от уровня средней нормы). Наставлениями к использованию препарата предусмотрено, что 1 МЕ препарата на 1 кг массы тела повышает активность АТ III приблизительно на 1%. С учетом этого, в начале лечения рекомендуемая активность составляет АТ III 120%, затем она поддерживается на уровне выше 80%. Таким образом, требуемую для введения дозу препарата АТ III можно рассчитать по формуле:

*Доза АТ III, МЕ = Желаемый рост активности АТ III, % × кг массы тела.*

В соответствии с предлагаемой нами тактикой, традиционные дозы СЗП (из расчета 15–25

мл/кг массы тела) могут быть уменьшены вдвое, а количество АТ III для инфузий подбирается с тем, чтобы его расчетная активность в крови больного была на уровне около 100%.

Приведем пример таких расчетов. Для пациента массой 75 кг с активностью АТ III в плазме крови 60% дефицит антикоагулянта составляет: 100% – 60% = 40%. Следовательно, с учетом массы тела, дефицит активности АТ III равен 40% × 75 кг = 3000 МЕ.

*Суточная доза СЗП, мл = 10 мл/кг × 75 кг = 750 мл (что в пересчете, принимая активность АТ III в плазме за 100%, ориентировочно составляет 750 МЕ активности АТ III).*

*Суточная доза АТ III, МЕ = Дефицит активности АТ III у больного, МЕ — Активность АТ III в составе переливаемой криоплазмы, МЕ.*

В нашем примере эта разница составляет 3000 МЕ – 750 МЕ = 2250 МЕ.

Контроль такой терапии по динамике активности АТ III в плазме крови больного должен проводиться в первые 1–3 дня лечения через 6–12 часов, поскольку период его полужизни может быть уменьшен до нескольких часов. Рекомендуемый интервал введении антикоагулянта — 4–6 часов.

**Плазмаферез при ДВС-синдроме.**

Ввиду того, что в патогенезе многих септических заболеваний играет развитие синдрома ДВС, нарушение реологических свойств крови и микроциркуляции, многие авторы для купирования этих процессов применяли лечебный плазмаферез. При этом отмечено более достижимое купирование ДВС-синдрома после сеансов лечебного плазмафереза у больных с почечной, печеночной недостаточностью сепсисом, ревматоидным артритом и рядом других состояний [19, 44, 46].

Тем не менее некоторые авторы применение плазмафереза при гнойно-септических состояниях ограничивают проявлениями синдрома полиорганной недостаточности, рекомендуя его в случаях доминирования печеночной или печеночно-почечной недостаточности [38, 39].

Современными показаниями для проведения лечебного плазмафереза, обладающего выраженным детоксикационным, реокорригирующим и иммуномодулирующим действием, являются тяжелая эндогенная интоксикация, острая почечная недостаточность, гепато-ренальный синдром. При краш-синдроме, ожоговом и сепсическом шоке плазмаферез способствует стабилизации гемодинамики и вместе с гемодиализом является средством профилактики и терапии острой почечной недостаточности. Элиминация плазмы способствует удалению всех токсичных веществ, накапливающихся при указанных осложнениях перенесенной травмы и операционного периода: эндо- и экзотоксинов, продуктов анаэробного метаболизма, паракоагуляции, перекисного окисления липидов, распада форменных элементов крови и миофибрилл, биологически активных веществ, цитокинов и других субстанций [9, 19].

Обычно, удаляемый объем плазмы крови при дискретном плазмаферезе замещается физиологическим раствором хлорида натрия или раствором альбумина для компенсации потери белка. Вместе с тем, при инфекционно-септических процессах при стабильной гемодинемике и низком риске генерализации инфекции полезным представляется проведение, так называемого, обменного плазмафереза, когда объем удаляемой плазмы замещается криоплазмой, содержащей проферменты и их естественные ингибиторы в полном наборе. Оптимальные условия процедуры:

- не менее 4-5 сеансов на курс лечения
- удаление до 1200 мл плазмы за один сеанс
- замена: 2/3 – ¾ объема удаляемой плазмы криоплазмой с введенным в нее гепарином (из расчета 1–2 тыс. МЕ на каждые 400–500 мл СЗП), оставшийся объем замещается сочетанием коллоидных и кристаллоидных растворов.

При использовании данной технологии сотрудниками клиники пульмонологии Алтайского государственного медицинского института [36, 43] была показана высокая эффективность комплексного лечения гнойно-деструктивных заболеваний легких в сочетании дискретного плазмафереза с криоплазменно-антиферментным комплексом. Мы считаем что обменный плазмаферез имеет хорошие клинические перспективы, позволяя проводить не только детоксикацию организма больного, но и обеспечивать восстановление уровня всех плазменных участников гемостатических реакций как непременное условие адекватной патогенетической терапии ДВС-синдрома. При этом также возможен описанный

нами выше маневр с препаратом АТ III и СЗП.

Таким образом, нам видятся новые горизонты в возможностях заместительной терапии диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови препаратами плазмы крови, в том числе с использованием экстракорпоральных воздействий. Дальнейшие сравнительные исследования помогут получить клинические доказательства их перспективности.

### *Список литературы*


1. Балуда В.П., Балуда М.В., Деянов И.И. Тлепшуков И.К. Физиология системы гемо-стаза. М., 1995. – 175 с.
2. Баркаган З.С. К обоснованию криотрансфузионной терапии тромбозов, ДВС-синдромов, терминальных состояний. //В кн: Новое в гематологии и трансфузиоло-гии. Тез. докл. II съезда гематологов и трансфузиологов Узбекистана. Ташкент, 1983. – С.223-225.
3. Баркаган З.С. Проблемы терапии синдрома диссеминированного внутрисосудисто-го свертывания. //Тер. архив, 1983. - №12. – С. 124-125.
4. Баркаган З.С. Геморрагические заболевания и синдромы. – М., 1988.- 528 с.
5. Баркаган З.С. Лечение синдрома диссеминированного внутрисосудистого сверты-вания крови.//В кн.: Справочник практического врача, под ред. А.И.Воробьева. М.: Медицина , 1990 .- Т.1. - С. 71-74.
6. Баркаган З.С. Узловые вопросы комплексной терапии острого и подострого ДВС синдрома. //Вестник интенсивной терапии, 1992. – Т.I. - №1. – С.11-17.
7. Баркаган З.С. Патогенез, диагностика и принципы терапии ДВС синдрома. // Materia Medica – 1997. - № 1 (13). – С. 5-14.
8. Баркаган З.С. Нарушения гемостаза у онкогематологических больных. // В кн.: Клиническая онкогематология. Руководство для врачей под редакцией М.А. Вол-ковой. - М.: «Медицина», 2001.- С.469-478.
9. Баркаган З.С. Гемостаз. // В кн: Руководство по гематологии в 3 т. Том 3, под ре-дакцией А.И. Воробьева. 3-е издание, переработанное и дополненное. М.: Ньюдиа-мед, 2005.- С.9-147.
10. Баркаган З.С., Лычев В.Г., Бишевский К.М. Современные проблемы диагностики и патогенетической терапии синдрома диссеминированного внутрисосудистого свер-тывания крови. //Тер. архив, 1979. - № 9. – С.11-18.
11. З.С.Баркаган, В.Г.Лычев, К.М.Бишевский и др. Механизмы гепаринорезистентно-сти и их клиническое значение. // Терапевтический архив.- 1982.- № 8.- С.77-82.
12. Баркаган З. С., Момот А. П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. - М.: Ньюдиамед, 2001. - 296 с.
13. Баркаган З.С., Момот А.П. Современные аспекты патогенеза, диагностики и тера-пии ДВС-синдрома. // Вестник гематологии, 2005. – Т. 1. - № 2. – С. 5-14.
14. Баркаган З.С., Шойхет Я.Н. Обоснование, тактика применения и эффективность криоплазменно-антиферментной терапии при сепсисе и инфекционно-деструктивных процессах. // Гематол. и трансфузиология. - 1989. - № 10. - С. 8-12.
15. Баркаган З.С., Шилова А.Н., Ходоренко С.А. Антитромботическая профилактика и терапия в онкологии. // Бюллетень сибирской медицины, 2003.- № 3.- С.9-17.
16. Воробьев А.И., Городецкий В.М., Шулутко Е.М., Васильев С.А. Острая массивная кровопотеря. – М.: ГОЭТАР-МЕД, 2001. – 176 с.
17. Воробьев А.И., Ленская Р.В. К сорокалетию журнала «Гематология и трансфузиология» // Гематол. и трансфузиол. - 1996. - Т. 41. - № 6. - С. 3-6.
18. Воробьев А.И., Плющ О.П., Баркаган З.С., Андреев Ю.Н., Буевич Е.И., Кудрявцева Л.М., Копылов К.Г., Полянская Т.Ю., Зоренко В.Ю., Мамонов В.Е., Селиванов Е.А., Шарыгин С.Л., Вдовин В.В., Свирин П.В., Жулев Ю.А., Воробьев П.А., Лукьянцева Д.В. Протокол ведения больных. Гемофилия. Утвержден зам. министра здравоохра-нения и социального развития РФ В.И.Стародубовым 30.12.2005 г. - М.: Издатель-ство «НЬЮДИАМЕД», 2006. - 120 С.
19. Воробьев П.А. Прерывистый лечебный плазмаферез. – М.: Ньюдиамед-АО, 1998. – 204 с.
20. Воробьева Н.А. Е.Л. Непорада, О.В. Турундаевская, Г.Н.Мельникова. Место кон-центрата антитромбина III в интенсивной терапии ДВС-синдрома. // «Анестезиоло-гия и реаниматология», 2007. - №2. - С. 42-44.
21. Воробьева Н.А., Солдатенко Н.В., Голубева Е.Н. К вопросу об эффективности раз-мораживания

донорской плазмы в медицине критических состояний. // Омский на-учный вестник, 2005. - № 1. – С. 98-100.

22. Долгов В.В., Свирин П.В. Лабораторная диагностика нарушений гемостаза. - М.-Тверь: ООО «Издательство «Триада», 2005. -227 С.

23. Дранник Г.Н., Ена Я.М., Варецкая Т.В. / Продукты расщепления фибрина/ фибри-ногена при патологических процессах (биохимические и клинические аспекты). – Киев: Здоровья, 1987.- 184 с.

24. Елыкомов В.А. Совершенствование диагностики и контролируемой терапии ДВС синдрома на основе динамического исследования тромбинемии и применения крио-супернатанта плазмы: Автореф. дисс. … докт. мед. наук. - Барнаул, 1998. – 39 С.

25. Елыкомов В.А., Баркаган З.С., Русанов В.М. и др. // Временный технологический регламент производства криоконцентрата и супернатантной плазмы. /М.- 1994.

26. Елыкомов В.А., Баркаган З.С., Шойхет Я.Н., Ерин Д.Н., Ерин Е.Н. Гемокоагуляционный спектр супернатантной фракции донорской плазмы и первый опыт ее клинического при-менения.// Вестник службы крови России.- 1998. - № 1. - С. 12- 14.

27. Ерин Д.Н. Роль снижения уровня физиологического антикоагулянтов при инфек-ционно-септическом ДВС синдроме и коррекция дефицита протеинов С и S крио-супернатантом: Автореф. дисс... канд. мед. наук. - Барнаул. – 1999. - С.25.

28. Ерин Е.Н. Лечение острого абсцесса и гангрены легкого с применением криосуперна-тантной плазмы: Автореф. дисс... канд. мед. наук. - Барнаул. – 1997. - С.23.

29. Зубаиров Д.М. Молекулярные основы свертывания крови и тромбообразования. Казань: Фэн, 2000. – 364 с.

30. Зубаиров Д.М., Зубаирова Л.Д. Роль микровезикул в гемостазе – новое направле-ние в изучении патофизиологии гемостаза. // Вестник гематологии. - 2005. – Т. 1. - № 2. – С. 15-20.

31. Зяблицкая Н.К. Динамика и коррекция уровня плазминогена, D-димера и основных физиологических антикоагулянтов в плазме в процессе лечения острого и подост-рого ДВС-синдрома: Автореф. дисс. … канд. мед. наук. - Барнаул., 2003. – 27 С.

32. Клиническая трансфузиология. А.Г.Румянцев, В.А.Аграненко – М.: ГОЭТАР МЕДИЦИНА, 1997. – 576 с.

33. Кузник Б.И. Физиология и патология системы крови. – Чита, 2004. – 336 с.

34. Лычев В.Г. Диагностика и лечение диссеминированного внутрисосудистого свер-тывания крови. – Н.-Новгород: Мед. кн.- НГМА, 1998. – 188 С.

35. Люсов В.А., Белоусов Ю.П., Бокарев И.Н. / Лечение тромбозов и геморрагий в кли-нике внутренних болезней. - М., 1976 .- 192 с.

36. Мартыненко В.А. Плазмаферез в комплексном лечении больных с тяжелыми фор-мами абсцессов и гангрен легких. // Автореф. Дис. ... канд. мед. наук. - Барнаул. – 1995. - 26 с.

37. Правила переливания плазмы. / Е.Б.Жибурт. – М.: ОАО «Издательство «Медици-на», издательство «Шико», 2008. – 240 С.

38. Рагимов А.А., Еременко А.А., Никифоров Ю.В. Трансфузиология в реаниматоло-гии. – М.: ООО «Медицинское информационное агенство», 2005. – 784 с.

39. Рагимов А.А., Порешина С.А., Салимов Э.Л. Плазмаферез при системном воспали-тельном ответе. – М.: Практическая медицина, 2008. – 124 с

40. Ройтман Е.В. Самсонова Н.Н. Воробьева Н.А. Применение препарата «Антитром-бин III» при критических состояниях. / Результаты кооперативного исследования Материалы 3-й Всероссийской научной конференции «Клиническая гемостазиоло-гия в сердечно-сосудистой хирургии (с международным участием» Москва, 1-3.02.2007. - С. 201-202.

41. Тактика трансфузионной терапии при синдромах диссеминированного внутрисосу-дистого свертывания крови (Тезисы докладов к научной конференции Всесоюзного научного общества гематологов и трансфузиологов.- Киров/ З.С.Баркаган, Г.Ф.Еремин, В.Г.Лычев, И.Б.Пчелкина // Киров.- 1976.- с.36-37.

42. Трансфузиологическая гемокоррекция /под ред. А.А.Рагимова. – М.: Практическая медицина. – 2008. – 597 с.

43. Цеймах Е.А. Коррекция функционального состояния протеолитических систем и фагоцитов в комплексном лечении больных острой эмпиемой плевры. – Автореф. дисс….докт. мед. наук. - Барнаул, 1996. – 44 с.

44. Шойхет Я.Н., Баркаган З.С., Мартыненко В.А., Рощев И.П., Бондаренко И.Г., Шус-тер Л.В. Плазмаферез в комплексном лечении тяжелых форм абсцессов и гангрен легких. // Клиническая медицина. 1989 .- № 9. - С. 32-35.

45. Шойхет Я.Н., Баркаган З.С., Рощев И.П. Комплексное лечение инфекционных де-структивных заболеваний легких с применением криоплазменно-

антиферментной терапии. // Грудная хирургия, 1986.- № 5. - С.44-46.

46. Шойхет Я.Н., Баркаган З.С., Рощев И.П., Мартыненко В.А. Применение криоплаз-мы, плазмафереза и антиферментных препаратов в комплексном лечении острых деструктивных заболеваний легких. // Методические рекомендации МЗ РСФСР, Барнаул, 1989. - 11 с.

47. Шойхет Я.Н., Дедерер Ю.М., Рощев И.П. Значение ликвидации микроциркулятор-ных нарушений в зоне воспалительного очага при лечении сепсиса. // Хирургия.- 1989. - № 6.- С.58-61.

48. Шойхет Я.Н., Елыкомов В.А., Ерин Е.Н. Клинический опыт применений криосу-пернатантной плазмы в комплексном лечении гнойно-деструктивных заболеваний легких. // VII Национальный Конгресс по болезням органов дыхания (тезисы док-ладов).- Москва.- 2-5 июля 1997.- С.187.

49. Шойхет Я.Н., Лепилов А.В., Ларионов П.М. и др. Структурные особенности сосу-дистого компартмента при острых абсцессах и гангрене легкого. // Проблемы кли-нической медицины. - 2007. - № 4 (12). – С. 62-68.

50. A New Luok at thhe Disseminated Intravascular Coagulation Syndrome.// Symposium, Thromb. Haemost.,1999. - V.82. - № 2. – P.706-721.

51. Abildgaard U. Biological action and clinical significante of antithrombin III // Amer. J. Hematol. - 1984. - V. 16. - N 1. - P. 77-79.

52. Activation of blood coagulation fibrinolytic and kallikrein system during storage of plasma. / M.Blonbдck, J.Chmielewska, C.Netre, O.Aketblom. // Vox.Sang. - 1984. - V.47.- № 5.- P.335-342.

53. Albert J., Blomqvist H., Gardlund B. et al. Effect of antithrombin concentrate on haemo-static variables in critically ill patients. // Acta Anaesthesiol. Scand. – 1992. – V. 36. – P. 745-752.

54. Antithrombin, prekallikrein and fibronectin levels in surgical patients. / R.F.Wilson, E.F.Mammen, M.C.Robson et al. // Arch.Surg.- 1986.- V. 121. - № 6. - P. 635-640.

55. Antithrombin III and plasminogen predictors for developing gram-negative septicemia./ H.R. Büller, C.Bolwerk, J.Catl et al. // Thromb. Haemost. - 1981.- V. 46. - № 1. - P. 397.

56. Ashkenazi S. Role of bakterial cytotoxins in hemolitic uremic sindrome and thromboci-topenic purpura. //Annual Review of medicine. – 1993. - № 44. - P. 11-18.

57. Bell W.R., Anderson N.D., Anderson A.O. // Heparin-induced coagulopathy. / J. Labor. Clin. Med.- 1977- v.4- №4- p.741-750.

58. Bick R.I., Michael D., Fekete L.F. Antithrombin III patterns in disseminated intravascu-lar coagulation. // Amer.J. Clin. Pathol. - 1980.- V.73. - № 4.- P.577-583.

59. British Commitee for Standarts in Haematology (1992). Guidelines for the use of fresh frozen plasma. // Transfus. Med. – 1990. – V. 2. – P. 57-63.

60. Byrnes J., Moake J., Klug P., Periman P. Effectiveness of the cryosupernatant fraktion of plasma in the treatment of refractory thrombotic thrombocytopenic purpura. // Amer. J. Hematol. – 1990. - № 34. - P.169-174.

61. Carreras L.O. Thrombosis and trombocitopenia induced by heparin. //Scand. J.Haematol. -1980.- V. 25. - № 36.- P.64-80.

62. Chapman H.A., Stone O.L. A fibrinolytic inhibitor of human alveolar macrophages: in-duction with endotoxin. // Am.Rev.Resp.Dis.- 1985.- V.132.- P.569-575.

63. Eisele B., Lamy M. Clinical experience antithrombin III concentrate in critically ill pa-tients with sepsis and multiple organ failure. // Sem. Thromb. Haemost. – 1998. – V. 24. – P. 71-80.

64. Hematologic pathophysiology./ Ed. by F.J. Schiffman. – Phyladelphia; Lippincott – Ra-ven, 1998. – 388 p.

65. Higgins T.L., Steingrub J.S., Tereso G.J. Drotrecogin alfa (activated) in sepsis: initial ex-perience with patient selection, cost, and clinical outcomes. // J Intensive Care Med, 2005. - V. 20. - № 6. – P. 339-345.

66. Hirsh J. Prevention venose thromboembolism in major orthopedic surgery. BC Decker Inc., Hamilton-London, 2004, 30 p.

67. Koerner K., Stampe D., Kubanek B. Das Tiefgefrarene Frisch-plasma in der Blutkomponententherapie.// Herstellung-Qualitдt iskontrolle indication «infusiontherapie».- 1981. - Bd. 8. – № 5. - S. 253-258.

68. Летаген С. Гемостаз и геморрагические заболевания / Пер. с англ. – М.: Аир-Арт, 2004. – 82 с.

69. Levi M., Schultz M., Rijneveld A., van der Poll T. Bronchoalveolar coagulation and fibrinolysis in endotoxemia and pneumonia. // Crit. Care Med. - 2003. – V. 31. – Suppl. 4. – P. 238-242.

70. Management of bleeding disorders in traumatic hemorrhagia Shock Staus with deepfro-zen fresh plasma. / H.G.Hehne, D.Numan, H.Burri, G.Wolf. // Intern.care. Med. - 1976. - № 4. - P.157-161.

71. Mc.Donald R.G. Pentoxifylline reduces injury to isolated lungs perfused with human neutrophils. // Amer. Rew.Resp. Dis.- 1991.- V. 144. - № 6.- P. 1347-1350.

72. Nguyen H.B., Corbett S.W., Menes K. Early goal-directed therapy, corticosteroid, and recombinant human activated protein C for the treatment of severe sepsis and septic shock in the emergency department. // Acad Emerg Med, 2006. – V. 13. - № 1. – P. 109-113.

73. Okajiama K., Uchiba M. The Anti-Inflamatory Properties of Antithrombin III. New Therapeutic Implications. // Seminaris Thrombosis and Hemostasis, 1998. – Vol. 24. – P. 27-32.

74. Pearson J.D. Endothelial cell function and thrombosis. // Baill. Clin. Haematol., 1999. – V. 12. – P. 329-341

75. Schipper HG., Kahle LH., Jenkins CSP., ten Cate JW. Antithrombin III transfusion in disseminated intravascular coagulation. // Lancet. – 1978. – V. 1. – P. 854-856.

76. Schouten M., Wiersinga W., Levi M., van der Poll T. Inflamation, endothelium, and co-agulation in sepsis. // J. Leukoc. Biol., 2008. – V. 83. – P. 536-545.

77. Shehata N., Blajchman M., Heddle N. Coagulaton factors in FFP and cryosupernatant. // Transfus. Med. – 2001. – V. 11. – P. 391-401.

78. Stanworth S., Brunskill S., Hyde C. et al. Is FFP clinical effective? A systematic review of randomised controlled trials. // Brit. J. Haemat. – 2004. – V. 126. – P. 139-152.

79. Turecek P.L. Antithrombin III. Modes Action. / Antitrombin Works, 2000. – 28 P.

80. Vinazzer HA. Antithrombin III in shock and disseminated intravascular coagulation. // Clin. Appl. Thromb. Haemost. (1). – 1995. – P. 62-65.

81. Williamson L. Storage of blood components // Practical Transfusion Medicine. /Ed. by M.F. Murphy, D.H.Pamphilon. – Oxford; Blackwell Science. – 2001. –

# ЛЕКЦИИ

# Белки теплового шока, атеросклероз, тромбоз, ДВС-синдром и продолжительность жизни. Пептидные механизмы регуляции

**Б.И. Кузник[1], Н.С. Линькова[3], В.Х. Хавинсон[2,3], Н.Н. Цыбиков[1]**

**[1] – ГОУ ВПО Читинская государственная медицинская академия**
**[2] – Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН**
**[3] – Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии СЗО РАМН**

## Резюме.

В обзоре приводятся общие сведения о белках теплового шока (HSP), даётся их классификация, и излагаются данные об их основных функциях. Объясняются интимные механизмы шаперонной функции, выполняемой HSP. Анализируются сведения литературы, говорящие о том, что HSP играют важную роль в патогенезе возникновения атеросклероза и сердечно-сосудистых заболеваний. При этом белки теплового шока выступают в качестве связующего звена между инфекцией, иммунными реакциями и инфильтрацией сосудистой стенки липопротеидами низкой плотности. Значительная часть обзора уделена антиоксидантному действию HSP. На основе данных литературы и результатов собственных исследований авторы выдвигают гипотезу, согласно которой одним из начальных этапов развития атеросклероза, ДВС-синдрома и тромбоэмболических осложнений является недостаточная защитная, в том числе шаперонная, функция HSP различной молекулярной массы.

В обзоре также представлены результаты собственных исследований авторов о геропротекторном действии регуляторных пептидов (РП), их взаимосвязи с рецепторными участками генов HSP, воздействии на процессы ПОЛ и систему гемостаза. РП через HSP предупреждают развитие апоптоза препятствуют развитию атеросклероза и малигнизации тканей, благодаря чему приводят к увеличению срока жизни человека.

## Ключевые слова.

Белки теплового шока, атеросклероз, тромбоз, свёртывание крови, регуляторные пептиды

## Summary.

The review provides an overview of the heat shock proteins (HSP), classify them and presents the information on their core functions. Explains the intimate mechanisms of chaperone function from the HSP. Analyzes information literature which indicate that HSP play an important role in the pathogenesis of atherosclerosis andcardiovascular disease. In this

case HSP act as a link between infection, immune responses and infiltration of the vascular wall low-density lipoproteins. A large part of the review given to the antioxidant action of HSP. On the basis of literature data and results of our studies the authors put forward the hypothesis that one of the early stages of atherosclerosis, disseminated intravascular coagulation and thromboembolic complications is the insufficient of protection, including chaperones, HSP function of various molecular weights.

The review also presented results of their research the authors of geroprotective action of regulatory peptides and their relationship to the receptor sites of HSP genes, the impact on the processes of lipid peroxidation and hemostasis system. Regulatory peptides of HSP in the development of apoptosis prevent, hinder the development of atherosclerosis and malignant tissue, thus leading to an increase in term of human life.

**Key words.**

heat shock proteins regulatory peptides, atherosclerosis, thrombosis, blood coagulation

## Общие представления о белках теплового шока.

За последние годы особое внимание исследователей привлекают к себе так называемые белки теплового шока, открытие которых связывают с исследованиями F. Ritossa (125), впервые в 1962 году обнаружившего пуф на слюнных железах дрозофилы, перенесшей тепловой шок. Но лишь в 1974 году A. Tissieres et al. (132) связали образование обнаруженных пуфов с усилением экспрессии генов, кодирующих образование белков, получивших наименование белков теплового шока или HSP (от слов Heat shock proteins).

В настоящее время не подлежит сомнению, что превалирующее большинство заболеваний начинается с местного поражения клеток и тканей и нередко сопровождается повышением температуры, что приводит к появлению HSP. Но синтез HSP отмечается не только при воздействии высоких температур, но и под влиянием токсических продуктов, аноксии, гипоксии, ишемии, хемотерапевтических агентов, канцерогенов и даже при дифференцировке и развитии клеток и тканей. Интенсивный синтез HSP проявляется при инфекционных заболеваниях, воспалении, лихорадке, ультрафиолетовом облучении, воздействии электромагнитных полей, солей тяжелых металлов, алкалозе и ацидозе, действии липополисахарида, атаке цитокинами, токсинами животного и растительного происхождения. Вот почему эти протеины носят второе название — **стресс-белки.** Локализуются HSP как внутриклеточно, так и непосредственно на мембране клетки (39, 51, 74, 94, 111).

После действия на клетки повреждающих агентов происходит не только активация синтеза HSP, но и их перемещение внутри клетки. После стресса HSP накапливаются в наиболее уязвимых участках клетки: в первые 4–5 часов — в ядре, затем в перинуклеарной, присарколеммальной зонах и вдоль актиновых филаментов (139).

Смысл накопления HSP в ядре после повреждения клетки заключается в защите генетического материала, в ограничении деградации прерибосом, восстановлении структуры и функции ядрышек, экранировании нуклеозодоступных участков ДНК (31). Находясь внутриклеточно, HSP являются частью петли обратной связи с ядерным фактором NF-kB и тем самым ограничивают интенсивность стрессорного воздействия (в том числе острого воспаления), а следовательно, органных дисфункций. Таким образом, HSP играют значительную роль в повышении устойчивости клеточного аппарата биосинтеза белка к повреждающим воздействиям.

В присарколеммной зоне скопление HSP совпадает по времени с появлением в этом участке клетки большого количества функционально активных, способных к трансляции молекул мРНК и рибосом. Тем самым HSP обеспечивают стресс-индуцированную миграцию рибосом. Предполагается, что скопление HSP и рибосом в присарколеммальной области необходимо для быстрого восстановления мембранных белков, к которым в частности относятся белки мембранных каналов, рецепторные белки, ферменты, а также тканевой фактор (TF). Следовательно, назначение этого явления сводится к тому, чтобы наиболее быстро и эффективно компенсировать повреждение мембранных белков [127, 134].

Но раз накопление HSP сопутствует повреждению тканей, то они могут рассматриваться как маркёры деструкции клетки [127].

Следует, однако, заметить, что HSP необхо-

димы не только для восстановления структуры и функции повреждённых клеток. Они также требуются для нормальной жизнедеятельности, ибо участвуют в поддержании гомеостаза, процесса роста и дифференцировки клеток [95] и, кроме того, проявляют прямой антиапоптотический эффект [122].

Согласно общепринятой классификации, все HSP распределяются на 6 семейств в соответствии с их молекулярной массой, выраженной в килодальтонах. При этом белки теплового шока, имеющие ММ до 40 кДа, объединяются в так называемые малые HSP (small HSP — sHSP). Остальные представлены семействами HSP70, HSP80, HSP90, HSP100, HSP110 кДа и выше. Представители каждого из семейств выполняют строго возложенные на них функции. Но особое внимание из-за более высокой насыщенности тканей стрессированного организма привлекают HSP с молекулярной массой 70 кДа. Эти белки в настоящее время наиболее хорошо изучены, и установлена их роль в деятельности органов и тканей. Оказалось, что **HSP70** является ведущим белком, выполняющим функцию молекулярных шаперонов. Последние участвуют в утилизации и в восстановлении повреждённых белков, то есть несут функцию белков-скрепок, иначе называемую **фолдингом** (от английского слова *fold* — складывать, сгибать).

Что же такое шаперонные (Chaperon — французское слово, подразумевается пожилая дама, сопровождающая молодую девушку на бал) функции?

Известно, что вновь синтезированным белкам присуща третичная и четвертичная структура. При воздействии высокой температуры, а также при стрессах, которым подвергается клетка, возникают аномальные белки, образующие агрегаты. Функции, которые HSP выполняют в регуляции правильного свёртывания (приобретения формы) вновь синтезированных белков и в дезагрегации аномальных белковых агрегатов, называют **шаперонными,** а сами белки теплового шока часто обозначают **шаперонами.** Следовательно, основное назначение HSP сводится к защите клетки от повреждающих факторов. Более того, HSP являются неспецифическими адаптогенами в клетках, оберегающими их от самых различных стрессорных ситуаций.

К шаперонам, кроме HSP70, относятся следующие белки: HSP90, HSP60, HSP22, HSP27. Чрезвычайно структурно и функционально родственны белкам теплового шока 70 — HSP100-110 и HSP170 [35, 51]. Способность к шопероннингу заложена в структуре белков-шаперонов, которая позволяет им осуществлять цикличное АДФ/АТФзависимое связывание с другими белками [97].

Установлено, что экспрессия генов HSP70 регулируется фактором транскрипции HSF1 (от слов Heat shock transcription factor). При этом HSF1 и HSP70 вместе с механизмами их активации и синтеза представляют внутриклеточную стресс-сенсорную систему, воспринимающую, оценивающую и соответствующим образом отвечающую на внутри- и внеклеточные стрессорные сигналы.

В нестрессированных клетках HSP70 находится в недеятельной мономерной форме, у которой отсутствует ДНК-связывающая активность. Мономерная форма HSF1 стабилизируется лишь благодаря связи с HSP70.

В стрессированной ситуации, когда появляются денатурированные белки, они вытесняют HSF1 из связи с HSP70 и при этом высвобожденные HSF1 быстро переходят в активную гомотримерную форму (структуру, состоящую из 3 молекул HSF1), мигрирующую в ядро и входящую в связь с регуляторным участком гена HSP70, после чего HSF1 активирует транскрипцию и синтез HSP70. Увеличение же внутриклеточного содержания HSP70 приводит к снижению в клетке повреждённых белков, которые прежде вытесняли HSF1 из комплекса с HSP70. При этом HSP70 вновь вступает во взаимосвязь с HSF1 и таким образом переводит последний в неактивную мономерную форму, благодаря чему синтез HSP70 прекращается [117].

Активность белков теплового шока регулируется другими белками — **ко-шаперонами,** которые способствуют выполнению основных функций HSP. Хотя многие ко-шапероны являются растворимыми цитозольными белками, некоторые из них локализованы во внутриклеточных мембранах или элементах цитоскелета. Ко-шапероны могут участвовать в АТФ-зависимой активности HSP70 и HSP90, включая такие функции, как секреция, белковый транспорт и образование/расщепление белковых комплексов. Ко-шапероны Hip, Hop, Hup, CHIP

модулируют нуклеотидный обмен и связывание субстратов белками HSP70, координируя свертывание новосинтезированных белков, исправляют неправильное свертывание поврежденных и денатурированных белков, направляют перенос белков через клеточные мембраны, ингибируют агрегацию белков и осуществляют деградацию по протеасомальному пути [90].

**HSP** делятся на 2 группы: конститутивные и индуцибельные. **Конститутивные HSP** содержатся в относительно высокой концентрации в состоянии покоя, и при стрессе их содержание возрастает незначительно. **Индуцибельные HSP** в обычных условиях практически не обнаруживаются, зато при стрессе их синтез резко возрастает. Однако такое деление является весьма условным, ибо зависит от специализации и того состояния, в котором находится клетка.

**Роль белков теплового шока в деятельности клетки и продолжительности жизни.** Наиболее важную роль конститутивные HSP70 играют в свёртывании третичной и четвертичной структуры белка. Оказалось, что HSP70 связываются с вновь синтезированными цепями белков в тех областях, где чаще всего может произойти нежелательное гидрофобное слияние белковых цепей друг с другом. В дальнейшем, благодаря распаду АТФ и выделяющейся при этом энергии, HSP70 транспортирует белковую цепь или к эндоплазматическому ретикулуму, или к митохондриям, или к аппарату Гольджи. В этих структурах происходит передача белковой цепи через мембрану на какой-либо другой белок теплового шока. И далее только этот (другой) HSP перечисленных органелл клетки регулирует формирование окончательной субъединичной структуры белка [124].

Уникальным молекулярным шапероном является HSP90, ибо он действует в основном на белки, участвующие в передаче внутриклеточных сигналов. HSP90 регулирует множественные стадии митогенного сигнального каскада. Белки-клиенты HSP90, как правило, имеют высокую молекулярную массу и мультидоменную структуру. Они обладают высокой потенцией пребывать во множественных регуляторных состояниях, часто претерпевают конформационные переключения, обеспечивая переход на другой регуляторный уровень.

sHSP — обширная группа белков, ассоциированная с ядром, цитоскелетом и клеточными мембранами. Будучи молекулярными шаперонами, они связывают частично денатурированные белки, предотвращая их необратимую агрегацию при стрессе и различных патологических состояниях [51, 102].

Повышенный синтез белков sHSP наблюдается не только в клетках, в которых происходит накопление нерастворимых белковых агрегатов, но и в структурах, подвергшихся воздействию самых различных неблагоприятных факторов. В частности, окислительный стресс, являющийся неотъемлемой частью интенсивного внутрисосудистого свёртывания крови, сопровождается усиленным синтезом sHSP, благодаря чему клетка защищается от окислительного шока [101]. В зависимости от интенсивности окислительного стресса клетка подвергается либо некрозу, либо апоптозу. Высокий уровень активных форм кислорода вызывает сильное повреждение белков, нуклеиновых кислот и липидов, что неминуемо ведёт к некрозу. Умеренный окислительный стресс приводит к апоптозу. sHSP, выполняя шаперонные функции, должны защитить клетку как от некроза, так и апоптоза. Но если sHSP не справляются со своей задачей, то клетка погибает (43, 51), и при этом высвобождаются прокоагулянты, усиливающие внутрисосудистое свёртывание крови [20, 21, 23, 27, 30].

В то же время антиапоптотическое действие sHSP может сыграть с организмом злую шутку. Установлено, что в клетках некоторых злокачественных опухолей повышена экспрессия HSP27, коррелирующая с ускоренным метастазированием и неблагоприятным течением болезни. Наоборот, при увеличении в крови антител к HSP27 выживаемость больных оказалась значительно выше [93]. Представленные данные говорят о том, что защитная роль sHSP по отношению к клеткам злокачественных образований может обернуться трагедией для больного человека, вплоть до развития метастазов и сопутствующих тромбоэмболических осложнений.

Стресс, который испытывает клетка, приводит также и к тому, что многие внутриклеточные белки денатурируются. При этом обнажаются гидрофобные области, благодаря которым происходит слипание повреждённых белков с образованием нерастворимых агрегатов. До сих пор окончательно не выяснено, как осущест-

вляется эта реакция. Установлено, что в отдельных клетках, в том числе нейронах базальных ганглий, таламуса, гипоталамуса, гиппокампа, мозжечка и коры головного мозга, обнаружена экспрессия генов и мРНК протромбина, фактора X свёртывания крови, фибриногена и фибринолитических агентов (активатора плазминогена и др.). В нервной ткани в довольно высоких концентрациях содержится тромбин [4]. После повреждения нервной ткани концентрация тромбина в первые 3 дня резко возрастает и превышает контрольные цифры в 10 раз [16, 62, 63, 64].

Само собой возникает вопрос, откуда же в нервной ткани появляются факторы свёртывания крови? Наличие мРНК свидетельствует о том, что они образуются непосредственно в нервных клетках. Также не исключено, что они попадают туда из тканевой жидкости с помощью эндоцитоза. Вместе с тем, их источником могут быть клетки окружения и, в частности, шванновские клетки и макрофаги, продуцирующие при своей стимуляции различные факторы свёртывания крови.

Следует заметить, что ещё в восьмидесятых годах прошлого века нами [27, 28, 29, 30] и нашими сотрудниками [36, 37] было установлено, что факторы свёртывания крови содержатся не только в печени, но и в других органах и тканях.

Весьма важным является и тот факт, что в клетках нервной системы имеется специфический ингибитор тромбина — нексин-1, образуемый также шванновскими клетками. Заметим, кстати, что при повреждении нерва концентрация нексин-1 в нервной ткани возрастает лишь на 7–9 день [4].

Известно, что тромбин способен оказывать влияние на регенерацию тканей, в том числе и нейронов [13, 14, 15, 23, 62, 63]. Но мы хотим подчеркнуть, что основное назначение тромбина связано с его способностью свёртывать фибриноген. Не этим ли действием объясняется свёртывание цитоплазмы при утомлении мышц, нейронов (тёмные нейроны при длительной тетанизации нерва) и развитии ДВС-синдрома? Если учесть, что многие клетки содержат TF, а анионные фосфолипиды мембраны, являющиеся плаццдармом для проявления каталитических реакций свёртывания, обращены внутрь клетки, то такое предположение кажется нам вполне обоснованным [58].

Разумеется, высказанное мнение является всего лишь гипотезой, которая нуждается в экспериментальном подтверждении.

Как же происходит деструктурирование цитоплазмы? Вот тут-то включаются в реакцию **индуцибельные HSP70,** содержание которых резко возрастает. Дело в том, что индуцибельные HSP70 обладают высоким сродством к денатурированным белкам. Взаимодействуя с гидрофобными поверхностями, индуцибельные HSP70 ограничивают дальнейшую агрегацию белков. Более того, благодаря использованию энергии АТФ, не только HSP70, но и денатурированные протеины, связанные с указанными белками теплового шока, изменяют свою конформацию. В результате перечисленных изменений происходит ослабление гидрофобных связей между повреждёнными белками. При этом они высвобождаются из связей и приобретают исходную пространственную структуру [39].

К сожалению, не все белки после дезагрегации вновь приобретают нативную структуру, часть из них остаётся необратимо повреждённой. Но такие «шлаки», дабы не засорять клетку, обязательно должны быть утилизированы. Это осуществляется либо с помощью лизосомальных ферментов, либо в процессе убиквитинзависимого протеолиза. И в том, и в другом случае участвуют HSP70, выполняющие транспортную функцию: они или облегчают перенос денатурированного белка к лизосомам, или доставляют комплекс протеолитических ферментов непосредственно к денатурированному белку [38, 39, 122]. Сам же процесс разрушения денатурированных белков по своему механизму напоминает фибринолиз.

Известно, что физическая нагрузка сопровождается ускорением свёртываемости крови и усилением её фибринолитической активности. Одновременно при интенсивной физической работе у большинства испытуемых повышается содержание мРНК HSP70 в лейкоцитах и его концентрация в сыворотке крови. По всей видимости, белок HSP70 выбрасывается в плазму не только из лейкоцитов, но и из других клеток. При этом не наступает гибель клеток, так как содержание в сыворотке креатининфосфата, аланинтрансферазы (АЛТ) и аспартаттрансферазы

(АСТ) не изменяется. Следовательно, большая концентрация HSP70 в сыворотке является результатом адаптации к стрессу [59].

Следует, однако, заметить, что HSP необходимы не только для восстановления структуры и функции повреждённых клеток. Они также требуются для нормальной жизнедеятельности клеток, ибо участвуют в поддержании их гомеостаза, процесса роста и дифференцировки, и, кроме того, проявляют прямой антиапоптотический эффект [122], что в значительной степени обусловлено сохранением лизосомальных мембран, а также предотвращением выхода лизосомальных ферментов, разрушающих клетки (88). Выраженная антиапоптотическая деятельность присуща конститутивным HSP70 и HSP90β, предохраняющим клетки от развития дегенеративных изменений при различных стрессорных воздействиях [100].

Установлено, что с возрастом у людей увеличивается содержание HSP32 в моноцитах и лимфоцитах. Но особенно резко концентрация этого белка в лейкоцитах возрастает при острых инфекционных заболеваниях, когда развивается гиперкоагуляция и нередко тормозится фибринолиз. При тепловом шоке содержание HSP32 в моноцитах значительно повышается, а в лимфоцитах снижается. У людей с инфекционными заболеваниями выявляются прямые корреляционные связи между содержанием С-реактивного белка и интерлейкина-6 (IL-6) в плазме и HSP32 в клетках крови [119].

Одной из гипотез, объясняющих наступление смерти, является повреждение клетки свободными радикалами, накапливающимися в течение жизни и приводящими к структурным изменениям цитоплазмы. В старости несостоятельность шаперонной функции HSP приводит к гибели клеток и постепенной смерти организма. На самых различных живых объектах (дрозофилы, нематоды, дафнии, мыши, крысы и другие) показано, что шаперонная функция HSP с возрастом значительно снижается [109, 112, 113, 116, 118]. Если высказанная гипотеза верна, то усиление шаперонной функции HSP должно способствовать продлению жизни. В частности, показано, что инсерционная мутация в гене митохондриального белка Hsp22 приводит к снижению средней продолжительности жизни дрозофилы на 40%. Напротив, сверхэкспрессия Hsp22 в мотонейронах ведет к удлинению срока жизни на 32%, увеличению устойчивости к окислительным повреждениям на 35% и к тепловому стрессу — на 39%. Кратковременное повышение температуры у дрозофил также приводит к накоплению HSP70 и ведёт к увеличению срока их жизни [131]. В опытах на нематодах (Caenorhabditis elegans) установлено, что мутация единственного гена, способствующего возникновению толерантности к действию температуры, продлевает жизнь животных [131]. Кратковременный тепловой шок приводит к увеличению продолжительности жизни животных, то есть оказывает стимулирующее, закаливающее действие (так называемый гормезис). Наконец, ограничение питания у грызунов уменьшает накопление кислых радикалов (ослабляет процессы перекисного окисления липидов — ПОЛ), что ведёт к усилению функции шаперонов и увеличению продолжительности жизни [115].

Важная роль принадлежит HSP70 в иммунном ответе, ибо под его воздействием усиливается синтез провоспалительных цитокинов, в том числе IL-1, TNFα и других, способствующих усилению агрегации тромбоцитов, ускорению свёртывания крови и ингибиции фибринолиза [9, 10, 11, 23, 25, 87, 108, 114], что отмечается при ДВС [5, 44, 45, 61, 76, 77]. Под влиянием патогенных возбудителей из микроорганизмов или зон аутологичного воспаления (повреждённая ткань) высвобождаемые HSP могут узнаваться поверхностными рецепторами иммунной системы — TLR-2, TLR-4, CD14, CD91, CD94, LOX-1 и др. При этом экстрацеллюлярные HSP индуцируют ядерный фактор NF-kB, благодаря чему происходит передача информации о наличии в организме патологического процесса и вовлечение иммунной системы в защитную реакцию, сопровождаемую экспрессией провоспалительных цитокинов [47]. Не подлежит сомнению, что от состояния иммунной системы не только зависят процессы регенерации, но и продолжительность жизни человека [2, 65, 67, 68].

Подводя итоги представленным в этом разделе фактам, мы еще раз хотим подчеркнуть, что HSP обладают значительным разнообразием защитных механизмов, позволяющих клеткам выживать в чрезвычайных обстоятельствах:

1. они играют решающую роль в восста-

новлении и утилизации поврежденных белков клетки, иначе фолдинге;
2. ограничивают апоптоз;
3. с одной стороны усиливают синтез NO, а с другой — препятствуют гиперпродукции NO, способной повреждать нейроны головного мозга;
4. приводят к дезагрегации внеклеточных β-амилоидных агрегатов;
5. усиливают выведение β-амилоида из межклеточных пространств;
6. защищают нейроны от токсического действия глутамата;
7. ограничивают внутриклеточную цитотоксичность β-амилоида;
8. HSP70, HSP90 и HSP32 способны усиливать продукцию провоспалительных цитокинов и оказывать влияние на интенсивность фагоцитарных реакций;
9. многие HSP являются регуляторами АТФазной активности;
10. HSP играют ключевую роль в обработке и презентации антигенов, определяя индивидуальную реактивность организма к антигенным воздействиям;
11. защищают клетки от медиаторов воспаления.
12. HSP принимают участие в защите сердца и мозга от ишемии, а также в предупреждении или ослаблении сепсиса [23].

Перечисленные сведения позволяют понять, почему усиление экспрессии HSP70 является одним из важнейших факторов увеличения продолжительности жизни животных и человека.

## Атеросклероз.

Еще в 1990 году J.A. Berliner et al. установили, что в макрофагах и гладко-мышечных клетках артерий человека в соответствии со степенью выраженности атеросклеротических поражений увеличена экспрессия шаперона HSP70. В частности, было показано, что HSP70, экспрессируемый макрофагами, концентрируется в центральных отделах атером вокруг мест некроза и липидных отложений, а при экспрессии в гладкомышечных клетках сосудов – в покрышке неосложнённых бляшек.

Уже на начальных стадиях атерогенеза наблюдается очаговая экспрессия HSP60 в эндотелиоцитах, мононуклеарах, фиксированных на эндотелии и гладкомышечных клетках интимы аорты. Кроме того, низкомолекулярные шапероны (sHSP), обладающие свойствами HSP60, обнаружены в поверхностных отделах атеросклеротических бляшек [83]. Не исключено, что sHSP связывается с рецепторами моноцитов и лимфоцитов на поверхности эндотелия [136]. С одной стороны, подобный механизм может обеспечить взаимодействие Т-лимфоцитов с моноцитами и антител с антигеном, а с другой — запускать провоспалительный путь и миграцию в стенки артерий Т-реактивных лимфоцитов, направленных против HSP. В частности, анализ HSP65-специфической Т-клеточной линии из периферической крови или атеросклеротических поражений, иммунизированных HSP кроликов, выявил накопление таких клеток в липидных пятнах и бляшках (137, 138).

В настоящее время не подлежит сомнению, что в патогенезе развития атеросклероза одно из ведущих мест принадлежит шаперонам и, в частности, HSP60/65. Установлено, что более 70% больных атеросклерозом имеют анти-HSP-антитела (85). Более того, анти-HSP-антитела рассматриваются как фактор риска прогрессирования атеросклероза и маркёр заболевания, особенно в присутствии паразитов, и в первую очередь Chlamydia pneumoniae [46, 47, 82].

Известно, что первой стадией развития атеросклероза является воспалительная реакция. При этом следует помнить, что Chlamydia pneumoniae содержат HSP60/65, к которым в организме человека и животных возникают антитела. В частности, иммунизация нормохолестерических кроликов HSP65 сопровождается довольно быстрым развитием атеросклеротических повреждений в интиме аорты, которые носят воспалительный характер. Если же кроликам давали пищу, богатую холестерином, то возникали типичные атеросклеротические бляшки, напоминающие таковые у человека. Кроме того, показано, что антитела, образуемые к HSP65, перекрёстно реагируют с HSP60 человека, в свою очередь антитела к HSP60 вступают во взаимодействие с человеческим HSP65 [117].

Чем же может быть объяснено подобное явление? Дело заключается в том, что существует высокая степень гомологии между микробным и вирусным HSP60 с одной стороны и челове-

ческим — с другой. В результате образующиеся антитела к микробным белкам теплового шока способны реагировать с человеческими HSP, экспрессируемыми подвергшимися воздействию стресса (включая классические факторы риска атеросклероза) эндотелиальными клетками. Более того, эндотелиоциты могут реагировать на аутоантитела к HSP60 с помощью Toll-подобных рецепторов [89, 135].

Но человеческие антиHSP60/65-аутоантитела реагируют с соответствующими белками теплового шока, находящимися на подвергшихся стрессу эндотелиальных клетках. Образующиеся иммунные комплексы проявляют комплементзависимую и антителозависимую цитотоксичность к эндотелиальным клеткам, что играет далеко не последнюю роль в формировании атеросклеротических бляшек.

Следует заметить, что антитела к микробному HSP60/65 обнаруживаются в бляшках молодых людей и даже подростков. Эти перекрестно реагирующие антитела узнаются эпитопами соответствующих белков теплового шока, служащими аутоиммунными мишенями при развитии самых ранних стадий атеросклероза [121].

В то же время HSP60/65 стимулируют человеческие моноциты, освобождающие провоспалительные цитокины и тем самым усиливающие течение воспалительного процесса, а также экспрессию TF на эндотелиальных клетках. При этом TLR связывают HSP и передают сигнал непосредственно в эндотелиальные и гладкомышечные клетки, вызывая их активацию. Эта реакция аналогична таковой при действии липополисахарида и обусловлена наличием общего рецептора, являющегося CD91.

Более того, HSP и их комплексы с пептидами эффективно захватываются антигенпредставляющими клетками (АПК) с помощью эндоцитоза через следующие рецепторы: CD91 (мультипотентный рецептор, связывающий 32 различных лиганда, в том числа $\alpha_2$-макроглобулин, HSP60, HSP90, Gp96 и многие другие), CD40 (член рецепторов семейства TNF), CD36 — рецептор мусорщик (*scavenger*-рецептор) на макрофагах и незрелых дендритных клетках, а также через TLR2 и TLR4 [60]. С помощью указанных рецепторов осуществляется не только иммунный ответ на HSP, но и выведение и удаление продуктов их деградации.

Представленные данные свидетельствуют о том, что белки теплового шока являются связующим звеном между инфекцией и атеросклерозом. *В частности, хламидийные и человеческие HSP60/65* могут находиться непосредственно в атеросклеротических бляшках. Более того, бактериальные и человеческие HSP выявлены в растворимой форме в крови людей с атеросклерозом. При этом HSP могут способствовать экспрессии адгезивных молекул и усиливать синтез и секрецию провоспалительных цитокинов. Из-за иммунологической молекулярной мимикрии между бактериальными и человеческими HSP, последние могут стать аутоантигенами, вызывающими к жизни реакции клеточного и гуморального иммунитета. При этом возникают перекрёстные реакции с эндотелием, экспрессирующим HSP, что в конечном итоге приводит к повреждению эндотелиальных клеток и развитию атеросклероза [47]. Одновременно нередко развивается инфаркт миокарда вследствие появления тромба на месте поврежденного атеросклеротическим процессом эндотелия коронарных артерий [46, 47].

Как же с этих позиций может быть обозначена роль ЛПНП в развитии атеросклероза?

ЛПНП могут рассматриваться как индукторы первой фазы, приводящие к выраженной экспрессии адгезивных молекул и HSP60 (а возможно, и других) на эндотелиальных клетках. В дальнейшем в процесс могут включаться аутоиммунные реакции, с образованием анти-HSP-антител. Кроме того, аутоантитела особенно интенсивно образуются против окисленных липопротеинов низкой плотности и кардиолипина. Указанные реакции наряду с другими факторами риска, особенно при высоком уровне холестерина в крови, вызывают экспрессию адгезивных молекул и сосудистых факторов роста и тем самым приводят к атеросклеротическому повреждению артерий [55]. У больных атеросклерозом интенсивность экспрессии HSP в бляшках положительно коррелирует с тяжестью патологического процесса [57]. В то же время вряд ли приходится сомневаться, что при атеросклерозе имеется наклонность не только к развитию локальных тромбозов, но и к диссеминированному внутрисосудистому свёртыванию крови.

Вместе с тем, повреждение эндотелия, происходящее в том числе и при атеросклерозе, со-

провождается высвобождением HSP20 из стенок сосудов в плазму, где они препятствуют агрегации тромбоцитов и развитию новых атеросклеротических бляшек. Однако таким действием обладают лишь нативные, а не агрегированные HSP. Одновременно в сосудистой стенке концентрация HSP20 значительно снижается. Оказалось, что в тромбоцитах человека имеются специфические сайты, способные взаимодействовать с HSP20. Более того HSP20 уменьшает способность тромбина активировать фосфолипазу С и таким образом препятствует высвобождению из мембраны кровяных пластинок фосфоинозитола [107]. В этом также заключается защитная роль белков теплового шока, направленная против развития тромботических осложнений.

## Тромбозы и ДВС.

Защитная роль HSP особенно ярко проявляется при тромбозах, а также при заболеваниях, сопровождающихся ДВС. Еще в 1997 году W.H. Dillman (94) показал, что у мышей с генетически детерминированной гиперпродукцией HSP70 после двадцатиминутной окклюзии коронарной артерии размер зоны некротизированного миокарда и уровень креатинфосфокиназы во время реперфузии были значительно меньше, чем у мышей с обычной экспрессией HSP70. Более того, у таких мышей отмечались более быстрые темпы восстановления функциональной активности сердца при реперфузии. Чем более устойчивы оказались крысы к развитию острого инфаркта миокарда, тем сильнее у них накапливались HSP в мышце сердца (57). К сказанному следует добавить, что при ДВС и тромбозах содержание HSP70 в плазме увеличивается в 20 и более раз, что в значительной степени может быть связано с освобождением белка из разрушающихся клеток [78].

Исследованиями, проведенными В.Т. Ивашкиным и О.М. Драпкиной [22], установлено, что лимфоциты больных инфарктом миокарда реагируют на заболевание включением системы защитных белков. При этом всех больных в первый день развития инфаркта можно разделить на 3 группы: I характеризуется ареактивностью системы синтеза $HSP70_i$ (приставка i означает индуцибельный) как при физиологически оптимальной температуре, так и после теплового шока; II характеризуется ареактивностью системы синтеза $HSP70_i$, но выраженной индукцией синтеза HSP после теплового воздействия; III отличается сохранением синтеза $HSP70^i$ в оптимальном температурном режиме и усилением синтеза этого белка после теплового шока. При этом показатели системы синтеза белка $HSP70_i$ высоко коррелировали с обширностью поражения миокарда в первый и второй дни заболевания. При обширном повреждении отмечалось нарастание уровня HSP70i в лимфоцитах при физиологически оптимальной температуре и уменьшение способности белков теплового шока к индукции в результате нагревания. Более того, чем выше была разница в содержании $HSP70_i$ до и после подвергания лимфоцитов тепловому шоку, тем благоприятнее был прогноз исхода инфаркта миокарда.

О.М. Драпкина [17] в процессе 28-дневного лечения больных постинфарктным кардиосклерозом выделяет 3 типа реагирования продукции $HSP72_i$: отсутствие изменений, увеличение содержания и снижение концентрации этих белков. Два последних типа реагирования расцениваются автором как истощение стрессмодулирующего и адаптационного эффектов HSP72. У таких пациентов отмечается тяжелое течение хронической сердечной недостаточности с резистентностью к проводимой терапии и неблагоприятным исходом.

Установлено, что HSP70 находятся непосредственно в кардиомиоцитах, где они функционируют в качестве кардиопротективного агента, защищая клетки от последствий ишемии, в том числе, возникающей при реинфузии. Но эти белки способны при ишемии миокарда покидать кардиомиоциты и оказывать непосредственное влияние на клетки иммунной системы, выполняя функции провоспалительных медиаторов. Под воздействием HSP70 активируются моноциты и макрофаги, в результате чего в крови возрастает концентрация IL-1, IL-6, IL12 и TNFα, действующих на гепатоциты, эндотелиальные клетки и моноциты и усиливающие опасность развития инфаркта миокарда [17]. При этом, как мы неоднократно отмечали [9, 10, 11, 23, 45, 106], создаются благоприятные условия для возникновения ДВС-синдрома.

Повышенная экспрессия и защитное действие HSP70 выявлены на различных моделях ишемии головного мозга. Так, при пониженном

содержании HSP70 усиливаются клеточные повреждения, вызванные локальной ишемией мозга как у нокаутных, так и интактных мышей. Доказано, что селективный анксиолитик — афобазол, обладающий выраженным нейропротекторным действием, не только улучшает кровоснабжение мозга в условиях экспериментальной глобальной преходящей ишемии, повышает устойчивость мембранных структур нейронов коры и стриатума к свободнорадикальным процессам, но и увеличивает синтез стресс-белка HSP70 в стриатуме мозга крыс [3].

Защитное действие на стрессорные влияния проявляется в большей степени в тех случаях, когда наступает более выраженная активация стресслимитирующих систем: HSP70 в лейкоцитах и NO в плазме [56].

Вместе с тем сам HSP70 способен стимулировать агрегацию тромбоцитов и даже приводить к возникновению тромбозов. Установлено, что HSP70 усиливает образование и активность растворимой гуанилилциклазы, катализирующей образование цГМФ, накопление которого, как известно, приводит к агрегации и секреции гранул кровяных пластинок [75,84]. Следовательно, при чрезмерном увеличении концентрации HSP70 может возникать предрасположенность не только к ДВС, но и к развитию тромбоэмболических осложнений. Такое состояние может быть особенно тромбоопасным в тех случаях, когда HSP70 не справляется со своей основной шаперонной функцией.

Следует обратить внимание, что у больных с наиболее тяжелым течением постинфарктного периода в лимфоцитах выявляются чрезвычайно низкие показатели HSP70, а иногда уровень этого белка определить вообще не удаётся. Клиническое течение у таких больных осложнялось развитием острой левожелудочковой недостаточности и симптомами ранней постинфарктной стенокардии. Одновременно у таких больных была чрезвычайно высока степень оксидативного стресса и выраженная дисфункция эндотелия. Применение у таких больных ингибиторов ангиотензинпревращающего фермента, содержащих сульфгидрильную группу, — эофеноприла и каптоприла — не спасает положения. Через 6 месяцев после перенесенного инфаркта миокарда уровень HSP70 в лимфоцитах оставался таким же низким, как и в первые сутки заболевания. Представленные данные свидетельствуют об истощении защитных систем организма, что и является неблагоприятным фактором прогноза, течения и исхода заболевания [19].

J. Zhou et al. [139] у молодых кроликов в возрасте 2–3 недель вызывали ишемию миокарда продолжительностью 45 минут, а затем производили 45-минутную реперфузию. Спустя 24 часа им вводился внутрибрюшинно норадреналин, значительно ускоряющий процесс свёртывания крови. При этом резко увеличивалось содержание HSP70, повышалось содержание оксипролина, АТФ и активность супероксиддисмутазы и понижалась концентрация малондиальдегида и эндотелина в миокарде. Одновременно ограничивались структурные изменения в реперфузируемой сердечной мышце.

Представленные данные свидетельствуют о том, что увеличение концентрации HSP70 действительно способствует ограничению повреждения клеточных структур, что должно предотвращать освобождение прокоагулянтов из клеток и возникновение ДВС.

Оригинальные сведения получены В.А. Назаровым и др. [48], показавшими, что в макрофагах, исходно не содержащих HSP70, липополисахарид вызывал активацию стресс-ответа в провоспалительном фенотипе, но не приводил к развитию противовоспалительных реакций. В макрофагах, исходно содержащих HSP70, или в макрофагах с предварительно вызванным ЛПС провоспалительным фенотипом стресс-ответ не развивался, а в антивоспалительном фенотипе отмечался ярко выраженный стресс-ответ. Провоспалительный фенотип характеризовался высокой продукцией провоспалительных цитокинов, таких как IL-1, IL-6, IL-8, IL-12, TNFα и других, ускоряющих процесс свёртывания крови. Антивоспалительный фенотип, напротив, сопровождался снижением синтеза провоспалительных цитокинов и увеличением концентрации IL-4 и IL-10, замедляющих свёртываемость крови [9, 11, 18, 23]. Следовательно, наличие в макрофагах HSP70 приводит к феномену репрограммирования стресс-ответа, заключающегося в трансформации фенотипа макрофагов. Кроме того, установлено, что при отсутствии в макрофагах HSP70 стимуляция ЛПС вызывала увеличение продукции NO, тогда как в макрофагах, содержащих HSP70, подобной реакции не наблюдалось (48).

Представленные данные с несомненностью говорят о том, что HSP70 играет защитную роль и тем самым способствует ликвидации ДВС-синдрома, всегда возникающего при введении животным или человеку ЛПС.

Известно, что введение эстрогенов при ишемических состояниях сопровождается вазодилатацией, падением агрегационной активности тромбоцитов и торможением процессов ПОЛ. Одновременно при этом отмечается активация белков теплового шока. В частности, при внутрибрюшинном введении эстрадиола монгольской песчанке на фоне экспериментальной глобальной ишемии в артериях происходила значительная активация HSP25/27 и HSP70. Если же эстрадиол применялся за 20 мин до вызывания ишемии, эти белки активировались в большей степени [71].

Одной из важнейших функций HSP70 и HSP90 является участие в регуляции синтеза NO, что способствует вазодилатации сосудов, антиагрегационному эффекту и повышению фибринолитической активности крови. Длительное применение статинов и, в частности, правастатина при ИБС и гипертонической болезни повышает уровень HSP70 и HSP90, что сопровождается усилением синтеза NO со всеми вытекающими отсюда последствиями [133].

Наконец, Э.А. Алекперов и др. [1] установили, что при стрессорных воздействиях (введение бактериального ЛПС, форбол-12-миристат-13-ацетата, влияние на тимоциты физиологических медиаторов стресса — катехоламинов) вначале наблюдается в различных клетках снижение HSP70. Действие на лимфоидные клетки линии EL-4 сильного окислительного стресса (внесение $H_2O_2$) характеризуется вначале существенным снижением HSP70 с последующим этапом быстрого роста, а затем медленным уменьшением его цитоплазматического пула. Авторы высказывают мнение, что такая реакция носит универсальный характер. Обусловлена она тем, что вначале происходит выброс части цитоплазматического пула указанного белка в окружающую среду. Будучи долгоживущим протеином, HSP70 не может быть быстро элиминирован.

Нет никакого сомнения, что указанные исследования льют воду на нашу мельницу. Вначале под воздействием стрессирующих агентов происходит истощение цитоплазматического пула HSP70, что неминуемо должно сопровождаться агрегацией белка в клетке, а следовательно, структурированием цитоплазмы. Безусловно, уже на этой стадии часть клеток не справляется с действием стрессирующего агента и получает сигнал к апоптозу. Но для большинства клеток на данной стадии процесс структурирования цитоплазмы является обратимым, так как содержание HSP70 в клетке значительно увеличивается, во много раз превышая его исходный уровень. Однако в дальнейшем структурирование цитоплазмы становится необратимым, так как внутриклеточный пул HSP70 истощается, и тогда, в зависимости от ситуации, усиливается постоянное внутрисосудистое свёртывание крови или развивается типичный острый или хронический ДВС-синдром.

Следует заметить, что с возрастом у людей в моноцитах и лимфоцитах увеличивается содержание HSP32. Но особенно резко концентрация этого белка в моноцитах и лимфоцитах возрастает при острых инфекционных заболеваниях, когда развивается гиперкоагуляция и нередко тормозится фибринолиз. При тепловом шоке содержание HSP32 в моноцитах значительно повышается, а в лимфоцитах снижается. У людей с инфекционными заболеваниями выявляются прямые корреляционные связи между содержанием С-реактивного белка и IL-6 в плазме и HSP32 в клетках крови [119].

Нашими исследованиями [23, 24, 73] показано, что у больных с осложнённым аппендицитом, острым абсцессом лёгкого и обострением хронического остеомиелита в плазме и сыворотке значительно возрастает содержание аутоантител к HSP70. Так, если в норме в сыворотке содержание антител к HSP70 соответствует всего лишь 32,2±1,2 нг/мл, то при осложнённом аппендиците оно возрастает до 540,3±30,2 нг/мл в сыворотке и 860,3±50,3 нг/мл в плазме. При абсцессе лёгкого концентрация антител в сыворотке достигает 330,2±20,1 нг/мл, а в плазме — 640,2±50,3 нг/мл. При обострении хронического остеомиелита эти цифры соответствуют 450,5±24,7 нг/мл в сыворотке и 720,3±47,6 нг/мл в плазме. Следует обратить внимание на то, что уровень аутоантител в плазме оказался в 1,5–2 раза выше, чем в сыворотке. Безусловно, это явление отчасти может быть объяснено тем, что в процессе образования фибринового сгустка

лейкоцитами и тромбоцитами могут дополнительно экспрессироваться белки теплового шока, которые способны связать находящиеся в сыворотке аутоантитела. Из сказанного вытекает, что определение антител к HSP следует всегда проводить в плазме, а не в сыворотке.

Нет никакого сомнения, что при гнойной хирургической инфекции наступает коагулирование цитоплазматических белков, что является мощнейшим стимулом активации генома HSP, сопровождающегося резким увеличением продукции белков теплового шока ядерными клетками хозяина. В особо тяжёлых случаях протекания патологического процесса синтез собственных белков клетками практически прекращается, а уровень шаперонов резко возрастает и достигает 15-20% всех белков цитоплазмы [111]. Но и этого зачастую оказывается недостаточно, для того чтобы «оживить» патологически поражённые клетки.

Однако, только этими фактами объяснить столь значительные сдвиги в содержании аутоантител к HSP70 невозможно. При наличии гнойного воспаления теряется так называемая «оральная толерантность» и микробы-сапрофиты включают новое звено патогенеза деструктивного воспаления и хронизации процесса. Известно, что под влиянием факторов естественной резистентности (действие антител, сенсибилизированных лимфоцитов, активированных нейтрофилов, стимуляции системы комплемента, бактерицидной активности сыворотки, лизоцима и др.), а также под действием антибиотиков сапрофитная микрофлора входит в состояние стресса и гиперпродуцирует белки теплового шока. Последние экспрессируются на поверхности как самих микроорганизмов, так и клеток хозяина, включённых в патологический процесс. Обладая выраженной антигенностью, белки теплового шока микроорганизмов и клеток хозяина индуцируют образование антител, а также сенсибилизируют лимфоциты, и тем самым замыкают порочный круг, усиливающий и пролонгирующий воспалительный процесс [19, 73].

Но одновременно HSP продуцируют и микроорганизмы, являющиеся источником гнойной хирургической инфекции. Следовательно, синтез белков теплового шока, в том числе HSP70, является комплексной реакцией, обусловленной ответом хозяина на внедрение патогенной микрофлоры, а также продукцией самих микроорганизмов.

Но чем выше содержание HSP, тем интенсивнее происходит образование к ним аутоантител. Отсюда становится ясно, что полученные нами данные могут свидетельствовать о том, что при гнойной хирургической инфекции в крови резко увеличивается концентрация HSP70.

К этому следует добавить, что экзогенный HSP70, выделяемый при разрушении бактерий, может интернализироваться клетками хозяина и тем самым формировать дополнительный пул белка, усиливающий их защитное действие. Сам по себе этот факт чрезвычайно важен, ибо при тяжело протекающих заболеваниях клетки теряют способность экспрессировать HSP70, что сильно увеличивает их уязвимость к действию множества стресс-факторов.

Известно, что при гнойной хирургической инфекции значительно усиливается постоянное внутрисосудистое свёртывания крови, вплоть до развития хронической формы ДВС-синдрома [5, 6, 23, 25, 73, 76, 77]. При этом одновременно происходит разрушение клеточных структур, что коррелирует как с интенсивностью внутрисосудистого свёртывания крови, так и с содержанием аутоантител к HSP70.

Защитную роль белков теплового шока при развитии внутрисосудистого свёртывания крови можно видеть также на следующем примере. Не подлежит сомнению, что сепсис всегда сопровождается развитием ДВС-синдрома, приводящего к возникновению полиорганной недостаточности [5, 25, 61, 76, 77]. Вместе с тем предварительное введение крысам HSP70 перед инъекцией ЛПС предотвращает у них на протяжении как минимум пяти часов потребление факторов свёртывания крови (за исключением фибриногена), а также способствует нормализации фибринолиза [50]. При этом сохраняется неповреждённой структура подвергшихся действию ЛПС клеток.

Представленные данные позволяют предполагать, что HSP70 в дальнейшем может быть использован как лечебный препарат для предотвращения развития грамотрицательных инфекций [50].

С указанных позиций нам представляется механизм развития ДВС при воспалительных, инфекционных и других заболеваниях следую-

щим образом. Внедрение микроорганизмов, приводящих к развитию патологического процесса, сопровождается не только повреждением клеток, но и структурированием цитоплазмы. При этом усиливается синтез и экспрессия белков теплового шока (в том числе HSP70), что должно сопровождаться восстановлением структуры цитоплазмы и сохранением нормальной деятельности клетки. Если HSP справляются с этой задачей, то патологический процесс приобретает абортивный или лёгкий характер, а заболевание вскоре заканчивается выздоровлением. При этом может усиливаться постоянное внутрисосудистое свёртывание, но никогда не развивается выраженная органная недостаточность. Если же HSP не справляются с отведённой им функцией, то повреждённые клетки получают сигнал к осуществлению запрограммированной смерти – апоптоза. Повреждение клетки, как и её гибель, приводит к образованию микровезикул, зачастую экспрессирующих тканевой фактор [19, 20, 21, 23, 52], что значительно усиливает течение постоянного внутрисосудистого свёртывания крови. Одновременное увеличение в крови концентрации провоспалительных цитокинов (L-1, IL-6, IL-12, TNFα и др.) сопровождается экспрессией не только TF, но и фактора фон Виллебранда (vWF), а также ингибиторов фибринолиза, в том числе PAI-1 и TAFI (ингибитор фибринолиза, активируемый тромбином). Всё это приводит в конечном итоге к появлению сладжей, усиленному внутрисосудистому свёртыванию крови, торможению фибринолиза с выраженными нарушениями микроциркуляции вплоть до развития полиорганной недостаточности со всеми вытекающими отсюда последствиями [23, 24, 73].

Почему же это происходит?

Дело в том, что способность HSP защищать повреждённые клетки не безгранична, ибо работа шаперонного механизма энергозависима. Так, спустя 40 минут после наступления окклюзии коронарных артерий дефицит макроэргов составляет более 90%, что практически несовместимо с жизнью клетки. При электронной микроскопии в ишемизированном кардиомиоците обнаруживается конденсация промежуточных филаментов в перинуклеарные агрегаты, реорганизация цитоплазматической сети, скопление активных филаментов вокруг ядра, вакуолизация и исчезновение митохондрий, а также признаки агрегации хроматина ядра и деструкция мембраны [17, 22].

Но HSP принадлежит также существенная роль в развитии сердечно-сосудистой патологии, сопровождающейся в значительном числе случаев возникновением тромбоэмболических состояний. В частности, установлено, что у больных стабильной стенокардией, сопровождающейся загрудинными болями, резко увеличивается концентрация аутоантител к HSP27. У людей пожилого возраста, а также при наличии гипертензии и сахарного диабета, содержание аутоантител к белкам теплового шока резко возрастает [126].

Уровень аутоантител к HSP27 значительно повышается у больных нестабильной стенокардией, увеличиваясь особенно сильно в первые 12 часов после инфаркта миокарда (в среднем в 5 раз выше, чем у здоровых людей), а затем по мере улучшения состояния начинает снижаться. Высказывается мнение, что возрастание титра аутоантител к HSP27 может служить ранним маркёром развития инфаркта миокарда [92].

Следует заметить, что с возрастом, и особенно при развитии атеросклероза, когда ИБС, инсульты и тромбоэмболические заболевания являются настоящим бичом человека, шаперонная функция белков теплового шока и, в частности, HSP70, значительно снижается [128].

Известно, что действие тромбина — обязательного участника внутрисосудистого свёртывания крови и тромбообразования — на регуляцию физиологических функций организма осуществляется через так называемые клеточные протеиназактивируемые рецепторы, получившие наименование PAR. В то же время обнаружено, что в PAR1-опосредованном изменении формы астроцитов под действием тромбина принимает участие HSP90. Показано специфическое взаимодействие PAR1 с HSP90 в дрожжах. На основании этих данных рецептор тромбина PAR1 включен в список клиентных белков, взаимодействующих с цитозольной формой HSP90. Установлено, что ингибитор HSP90, гелданамицин, блокирует АТФазную активность HSP90 и предотвращает его взаимодействие с клиентными белками. Нет никакого сомнения, что представленные данные позволяют говорить о роли свёртывающего белка тромбина в опосредованном изменении структуры цитоплазмы.

Но дело заключается не только в этом. Установлено, что повреждение in vivo нейронов гиппокампа может быть обусловлено окислительным стрессом при активации микроглиальной оксидазы, опосредуемым тромбином. При этом тромбин активирует рецепторы PAR-1, PAR-3 и PAR-4 и тем самым участвует как в гибели нервных клеток при различных нейродегенеративных болезнях, в том числе при инсультах, так и в протекции нейронов мозга. При этом определяющим в действии тромбина является амплитуда и продолжительность стимуляции указанных рецепторов [13, 14, 15, 16, 62, 63, 64].

В то же время активированный протеин С в низких (пМ) концентрациях оказывает прямое антиапоптотическое действие на культивируемые нейроны мозга при эксайтотоксическом действии глутамата и высоких концентраций тромбина. Оказалось, что в нейронах гиппокампа и коры крысы экспрессируется эндотелиальный рецептор протеина С (EPCR). Уровень экспрессии EPCR модулируется под действием тромбина и глутамата. Протекторное действие APC на нейроны мозга реализуется через два типа рецепторов — EPCR и PAR1 при обязательном участии HSP90 [15, 16, 34].

Но если это так, то использование белков теплового шока в качестве лечебной процедуры должно приводить не только к улучшению состояния больных, но и к восстановлению повреждённых клеток, а также к ликвидации хронических форм ДВС-синдрома.

Исследованиями, проведенными А.А. Мокрушиным и др. [43], показано, что использование HSP70 в низких концентрациях сопровождается восстановлением электрогенеза нейронов обонятельной коры, защищая их от повреждающего воздействия гипоксии и повышенного уровня глутамата. Более того, C. Soti et al. [129] при самых различных неврологических заболеваниях, в том числе ишемическом и геморрагическом инсульте, применили с терапевтической целью HSP70 и получили хорошие результаты. При этом значительно быстрее восстанавливались нарушенные функции центральной нервной системы. Авторы считают, что использование HSP70 является одним из самых перспективных методов лечения нервных заболеваний, сопровождающихся повреждением клеток.

Представленный обзор литературы и собственных данных свидетельствует о значительной роли, которую играют белки теплового шока в патогенезе развития атеросклероза, ДВС-синдрома и тромбообразования при многих патологических состояниях организма.

## Пептидная регуляция экспрессии гена HSP, продолжительность жизни и система гемостаза.

Не подлежит сомнению, что поддержание гомеостаза у человека и высших животных осуществляется при непосредственном участии центральной нервной системы и гуморальных факторов, включающих в себя гормоны, продукты обмена, а также громадное число биологически активных соединений, продуцируемых органами, тканями и клетками. Среди последних особое место отводится пептидам. За последние годы в Санкт-Петербургском институте биорегуляции и геронтологии СЗО РАМН на основе анализа аминокислотного состава экстрактов из различных тканей разработана технология синтеза коротких пептидов [103, 104, 105], способных вмешиваться в течение самых различных физиологических функций и потому получивших наименование регуляторные пептиды (РП).

Что же представляют собой РП?

Согласно представлениям В.Х. Хавинсона и др. [65, 66], любая информация, поступающая в организм, контролируется системой биорегуляции, действие которой направлено на сохранение высокой степени стабильности функционирования генома. Следовательно, основная задача системы биорегуляции заключается в управлении экспрессией генов, процессами биосинтеза и защитными функциями организма. В свою очередь, информация об изменениях внешней и внутренней среды служит фактором, который индуцирует трансформацию в системе биорегуляции, необходимую для сохранения определенного уровня функциональной активности клеток. Отсюда невольно напрашивается вывод, что взаимодействие генома с информационными молекулами, в частности, РП, играет чрезвычайно важную роль в поддержании клеточного гомеостаза.

Оказалось, что многие РП обладают рядом геропротекторных эффектов, увеличивающих продолжительность жизни животных, индуцирующих дифференцировку и пролиферацию

клеток, а также способных регулировать экспрессию генов [32, 68, 69, 70, 81]. Результаты последних исследований биологической активности коротких пептидов показали, что они могут стимулировать экспрессию генов белков теплового шока, что во многом объясняет широту их стресспротекторных и геропротекторных эффектов.

Мы неоднократно указывали на то, что белки теплового шока играют важную роль в защите клетки от повреждений, вызванных различными стрессорными факторами (повышенная физическая нагрузка, инфаркт миокарда, инфекционные заболевания), участвуют в процессах клеточной дифференцировки и активации иммунной системы. Показано, что при старении экспрессия белка теплового шока HSP70 снижается. В связи с этим логично предположить, что повышение экспрессии HSP70 может обладать не только стресс-, но и геропротекторным действием.

Вместе с тем, в Санкт-Петербургском институте биорегуляции и геронтологии СЗО РАМН синтезированы пептиды, обладающие рядом геропротекторных эффектов, увеличивающие продолжительность жизни животных, индуцирующие дифференцировку и пролиферацию клеток, а также способные регулировать экспрессию генов [25, 32, 68, 70, 103, 104, 105]. Результаты последних исследований биологической активности коротких пептидов показали, что они способны стимулировать экспрессию генов белков теплового шока, что во многом объясняет широту их стресспротекторных и геропротекторных эффектов.

Исследование регуляции экспрессии гена белка теплового шока HSP70 под действием пептида Т-34 (Glu-Asp-Gly) было проведено в модели индуцированной язвы желудка у крыс. Пептид Т-34 животным вводили подкожно в дозе 0,5 мкг в 0,5 мл физиологического раствора ежедневно в течение 5 дней с момента возникновения язвы. Материал из края язвы забирали на 7 сутки и исследовали экспрессию гена белка теплового

**A**

```
1 c CATGG caac actgtcacaa ccggaacaag cacttcctac caccccccgc ctcaggaatc
61 caatctgtcc agatccctct agagagttct ggacaagggc ggtaccctca a CATGG atta
121 ct CATGG gag gcggagaagc tctaacagac ccgaaactgc tggaagattc ttggccccaa
181 ggctcctccc gctcgctgat tcgcc CATGG gagggtgggc ggggccggag gagcctcctt
241 aaaggggcag ggcggcgcgc aggacaccag attcctcctc ctaat 285
```

**B**

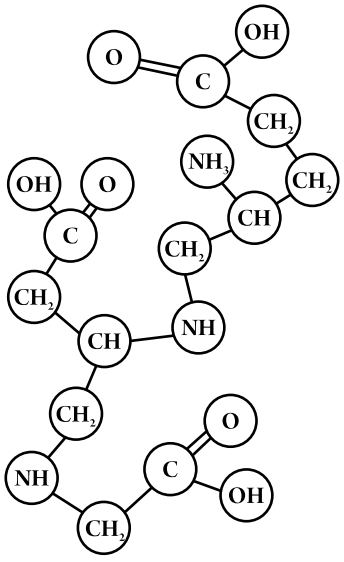


*Рис. 1. Структура биологически активного трипептида Glu-Asp-Gly (EDG) в развёрнутой конформации.*

шока HSP70 методом вестерн-блоттинга. Установлено, что экспрессия гена белка теплового шока HSP70 в образцах слизистой оболочки из края язвы желудка на 7 день после ее индукции возрастала в 45 раза по сравнению с нормальной слизистой оболочкой, взятой у интактных животных. Пептид Т-34 оказывал репарационное действие на слизистую оболочку желудка и приводил к снижению экспрессии белка HSP70 до контрольного уровня [68, 70].

Исследование пептидной регуляции экспрессии гена белка теплового шока HSPA1A при повышенной физической нагрузке, являющейся моделью стресса, было проведено на 20 гимнастках. Спортсменок разделили на 2 равные группы – контрольную, не использующую пептиды, и опытную, получавшую трипептиды в виде биологически активных добавок (по 1 капсуле 2 раза в день в течение 20 дней). Всем женщинам опытной группы был назначен иммуномодулирующий пептид Т-36 (Glu-Asp-Pro). В зависимости от степени выраженности риска развития различных заболеваний в комбинации с пептидом Т-36 был применен пептид Т-38 (Lys-Glu-Asp) — при наличии генных мутаций, повышающих риск развития сердечно-сосудистых заболеваний, либо пептид Т-33 (Glu-Asp-Arg) — при мутациях, повышающих риск развития болезни Альцгеймера. Двум женщинам с повышенным риском развития сахарного диабета был назначен пептид АКС-П (Lys-Glu-Asp-Trp-$NH_2$). В контрольной группе при первичном измерении экспрессия гена HSPA1A составила 2,3±0,08 и не отличалась от данных повторного измерения — 2,0±0,16. В опытной группе до приема пептидных препаратов экспрессия гена HSPA1A составила 1,9±0,13. После приема комплекса коротких пептидов экспрессия гена HSPA1A равнялась 4,4±0,15, что примерно в 2 раза выше по сравнению с исходным значением в опытной группе и контроле ($p<0,05$). Полученные данные свидетельствуют об усилении экспрессии гена белка теплового шока под воздействием комплекса коротких пептидов, что указывает на их антистрессорный эффект, в основе механизма действия которого лежит пептидная регуляция экспрессии генов [65, 81, 103, 104, 105].

На основе полученных данных одним из нас (103, 104, 105) было выдвинуто предположение о возможности комплементарного взаимодействия трипептида Т-34 и промотерного участка гена белка теплового шока. На рисунке 1 представлена структура промотера гена белка HSP70 (рис. 1А) и исследуемого трипептида Glu-Asp-Gly (EDG) в развёрнутой конформации (рис. 1Б). Видно, что эта молекула имеет одну концевую аминогруппу и три карбоксильных группы – две из них боковые. Продольный размер молекулы, имеющей две пептидные связи, составляет 14Å. Таким образом, для комплементарного взаимодействия этого трипептида с двойной спиралью ДНК требуется нуклеотидный блок, содержащий не менее 5-ти нуклеотидных пар. Статистический анализ нуклеотидной последовательности показал, что промотерный участок гена белка HSP70 содержит пятичленный нуклеотидный блок **CATGG,** повторяющийся 4 раза.

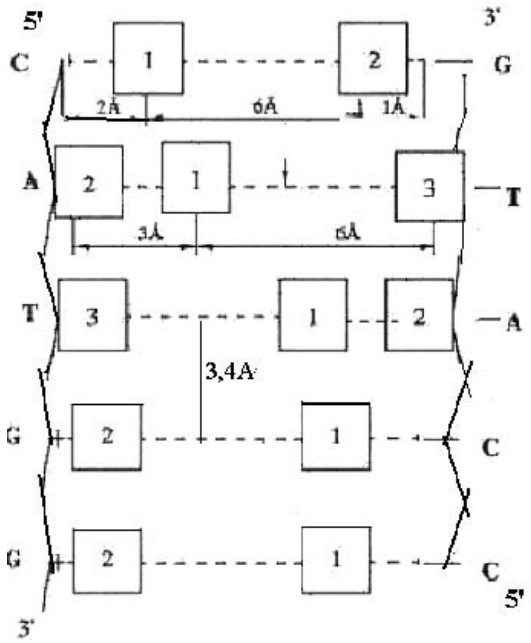


*Рис. 2. Схема расположения нуклеотидных пар блока CATGG и принадлежащих им функциональных групп, экспонированных на поверхность большой канавки двойной спирали ДНК.*
*1 – донор водородной связи, $NH_2$;*
*2 – акцептор водородной связи $^7N$;*
*3 – акцептор гидрофобной связи $CH_3$.*

На рисунке 2 дана схема расположения функциональных групп нуклеиновых оснований на поверхности большой канавки двойной спирали блока **CATGG** и возможная конформация нуклеопептидного комплекса, основанного на комплементарных водородных связях трипептида и ДНК в большой канавке двойной спи-

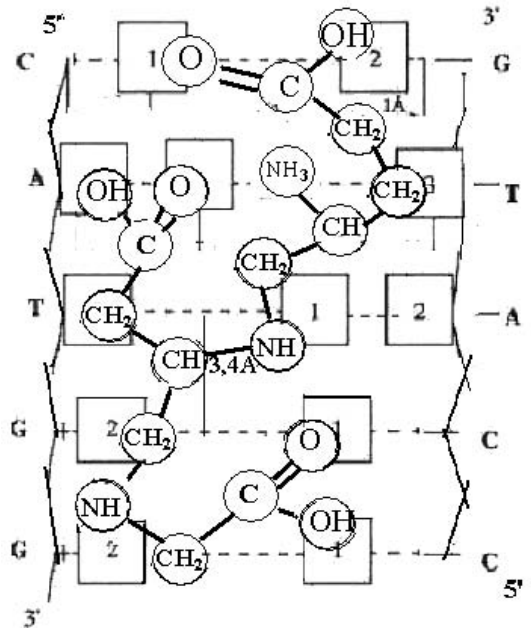


*Рис. 3. Схема комплементарного взаимодействия трипептида Glu-Asp-Gly (EDG) с сайтом связывания CATGG на промоторном участке гена белка теплового шока HSP70. Прочность этого комплекса определяется семью водородными и двумя гидрофобными связями.*

рали. Таким образом, данные моделирования комплементарного взаимодействия исследуемого трипептида с промотерным участком гена белка HSP70 показали возможность их связывания (рис. 3), в результате которого, вероятно, и происходит изменение экспрессии указанного гена.

Но каков же механизм геропротекторного действия коротких пептидов? Ответ на этот вопрос дают многочисленные исследования, проведенные В.Х. Хавинсоном и сотр. (65-70), Б.И. Кузником и сотр. [23, 25], Н.Н. Цыбиковым [72, 73] и многими другими [31, 33, 54, 55].

Установлено, что синтетические пептиды стимулируют процессы клеточной дифференцировки и пролиферации и снижают уровень апоптоза, повышающегося при старении. Установлено, что короткие пептиды стимулируют дифференцировку $CD34^+$ стволовых клеток костного мозга эмбриона человека в $CD14^+$ клетки (миелоциты), $CD3^+$ клетки (предшественники Т-лимфоцитов), $CD4^+$ клетки (Т-хелперы) и $CD8^+$ клетки (цитотоксические Т-лимфоциты). Пептид Lys-Glu-Asp усиливает дифференцировку $CD4^+CD8^+$ тимоцитов в Т-хелперы [32, 69, 70]. Таким образом, короткие пептиды способствуют поэтапной дифференцировке клеток лимфоидного ряда, стимулируя переход стволовых форм в малодифференцированные, которые, в свою очередь, под влиянием пептидов переходят в следующую стадию дифференцировки – зрелые клетки. В культуре полипотентных клеток Xenopus laevis установлена дифференцировка их в различные ткани в зависимости от структуры воздействующего пептида [33, 70]. Пептид Ala-Glu-Asp-Gly стимулировал появление нервной ткани, пептид Lys-Glu-Asp-Pro — эпидермиса, мезенхимы и сомитов, пептид Lys(H-Glu-OH) — сетчатки. Кроме того, пептиды Ala-Glu-Asp-Gly, Lys-Glu-Asp-Pro и Lys(H-Glu-OH) способствовали усилению синтеза в культуре Xenopus laevis белка α-актина, участвующего в ремоделировании цитоскелета при клеточной дифференцировке. Пептид Ala-Glu-Asp-Gly в 6–8 раз усиливал экспрессию транскрипционного фактора CGRP и белков матричных металлопротеаз — MMP2 и MMP9 в культуре клеток эпифиза крыс, что свидетельствует о стимуляции дифференцировки пинеалоцитов, которая снижается при старении [55]. В старой культуре клеток поджелудочной железы эмбриона человека пептид Lys-Glu-Asp-Trp восстанавливал экспрессию транскрипционного фактора CXCL12 до уровня молодой культуры, что указывает на геноспецифическую дифференцировку исследуемых клеток.

Кроме того, короткие пептиды стимулировали пролиферацию клеток иммунной, нервной тканей и стволовых клеток. Так, в культуре мезенхимальных стволовых клеток человека под действием пептида Lys-Glu-Asp на 3 и 5 сутки их число в 2 раза превышало контрольный уровень. Пептиды Lys-Glu и Lys-Glu-Asp в органотипической культуре селезенки старых крыс усиливали пролиферативную активность $CD8^+$ клеток в 8–10 раз и $CD4^+$ клеток в 2–4 раза. Сходный эффект наблюдался в органотипической культуре тимуса старых крыс. В диссоциированной культуре тимоцитов крыс пептид Lys(H-Glu-OH) увеличивал число пролиферирующих клеток на 15% при одновременном снижении уровня апоптоза [70].

Исследование влияния коротких пептидов на экспрессию маркёра пролиферации Ki-67 в органотипической культуре клеток эпифиза крыс показало, что под действием пептидов Lys-Glu-Asp и Ala-Glu-Asp-Gly пролиферативная

активность клеток возрастает соответственно в 1,7 и 3 раза.

Короткие пептиды в культуре клеток эпифиза и тимуса способствовали снижению уровня экспрессии проапоптотического маркёра p53, уровень которого возрастал при старении [123]. Так, в культуре клеток эпифиза и тимуса старых крыс при введении пептидов Lys-Glu-Asp и Ala-Glu-Asp-Gly, Lys(H-Glu-OH) и Lys-Glu-Asp экспрессия белка p53 снижалась в 4–8 раз относительно контроля, что свидетельствует об их способности ингибировать развитие программированной клеточной гибели по митохондриальному пути.

С представленных позиций становится ясным один из механизмов геропротекторного действия регуляторных пептидов. Усиливая экспрессию гена HSP70, регуляторные пептиды тем самым способствуют сохранению структуры клетки, увеличивают её устойчивость к стрессам, усиливают процессы роста и дифференцировки, способствуют пролиферативной активности и препятствуют её апоптозу, что в итоге способствует увеличению продолжительности жизни.

Следует заметить, что белки теплового шока оказывают выраженное противовоспалительное действие, предотвращая ответы клеток на такие воспалительные цитокины, как TNF, IL-1, IL-6 и др. В то же время под воздействием провоспалительных цитокинов, в том числе IL-1β, в условиях стресса значительно усиливаются процессы ПОЛ, сопровождаемые накоплением малонового диальдегида, не только в крови, но и в различных структурах головного мозга [53]. В то же время усиление процессов ПОЛ, как правило, приводит к стимуляции сосудисто-тромбоцитарного гемостаза и ускорению процесса свертывания крови [6, 7, 8, 41, 42]. Безусловно, HSP, предотвращая действие провоспалительных цитокинов при стрессе, должны способствовать процессу нормализации физиологических функций и сохранению жизни.

В многочисленных исследованиях Хавинсона и соавт. [65, 66, 67, 68, 103, 104, 105] показано, что одним из свойств регуляторных пептидов является значительное торможение процессов ПОЛ и усиление антиоксидантной защиты. В то же время по мере старения организма в самых различных клетках и тканях повышается интенсивность липидпероксидации и ослабляются антиоксидантные функции [81].

В исследованиях на мутантной линии дрозофил, подверженных ускоренному старению вследствие высокого уровня ПОЛ, сравнивалось действие пептидного экстракта эпифиза — эпиталамина и прямого антиоксидантного фермента мелатонина. Установлено, что эпиталамин способствовал снижению уровня продуктов ПОЛ у дрозофил в 2–3, 4 раза и повышал активность антиоксидантного фермента супероксиддисмутазы, что сопоставимо с результатами, полученными для эпиталамина. Кроме того, эпиталамин повышал активность супероксиддисмутазы в крови у крыс на 20%, тогда как мелатонин не оказывал такого эффекта. Следует отметить, что синтетический пептид Ala-Glu-Asp-Gly, созданный на основе эпиталамина, также проявлял антиоксидантную активность, что выражалось в снижении образования активных форм кислорода в головном мозге крыс [65, 66, 67].

Не исключено, что действие коротких пептидов, направленное на нормализацию процессов ПОЛ и усиление антиоксидантной защиты, в значительной степени обусловлено усилением экспрессии гена HSP70 и других шаперонов, являющихся регуляторами процессов липопероксидации и тем самым предотвращающими гибель клетки и, следовательно, развития гиперкоагуляции [6, 7, 8, 41, 42], значительно усиленной в пожилом и старческом возрасте [23, 41].

Одной из теорий, объясняющих механизмы старения, является несостоятельность клеточного и гуморального иммунитета. Известно, что к старости наступает инволюция тимуса. Большая часть его долек замещается жировой тканью. Регуляторные пептиды, приводящие к увеличению концентрации HSP, восстанавливают клеточность и функциональную активность вилочковой железы [2, 65, 67].

Известно, что при старении усиливается агрегационная активность тромбоцитов, ускоряется свёртываемость крови и тормозится фибринолиз, благодаря чему значительно усиливается постоянное внутрисосудистое свёртывание крови [24, 41, 42]. Вместе с тем, многочисленными исследованиями показано, что регуляторные пептиды при стрессорных воздействиях и при различных патологических состояниях нормализуют состояние системы гемостаза [23–26, 41,

42, 103, 104]. Не исключено, что это свойство регуляторных пептидов способствует в пожилом возрасте снижению частоты развития тромбоэмболических заболеваний, и, следовательно, приводит к увеличению срока продолжительности жизни [24].

Установлено, что пептиды Nα-(γ-L-Glu)-L-Lys и Ala-Glu-Asp способствовали увеличению численности основных популяций клеток тимуса в стареющих (8 пассажей) культурах, что выражалось в снижении численности незрелых $CD4^+CD8^+$ клеток и увеличении числа зрелых $CD4^+$ и $CD8^+$ клеток. Другим признаком усиления дифференцировки тимоцитов под действием указанных пептидов служило повышение доли активированных тимоцитов, экспрессирующих CD3. Кроме того, было установлено, что пептиды Lys(H-Glu-OH), Nα-(γ-L-Glu)-L-Lys и Ala-Glu-Asp способны усиливать пролиферативную активность тимоцитов [32, 69].

В исследовании В.О. Поляковой и др. [54, 55] было выявлено геропротекторное действие пептида Lys(H-Glu-OH) на эпителиальные клетки тимуса (ТЭК) в стареющей культуре, прошедшей 8 пассажей [19]. Число вступивших в апоптоз ТЭК в контрольной культуре составляло 20-25%, тогда как под действием пептида оно снижалось до 10–14%. Стимулирующее действие пептида Lys-Glu на культуру клеток тимуса выражалось не только в активации клеточного звена вилочковой железы, но и в усилении синтетической функции тимуса. Показано, что пептид Lys-Glu стимулирует синтетическую активность ТЭК в отношении IL-1β и IL-7 [66, 67]. Возможно, данный дипептид выступает в роли физиологического стимулятора выработки IL-1β и IL-7, которые, в свою очередь, оказывают регуляторные эффекты на процессы дифференцировки и пролиферации тимоцитов. Наконец, в модели радиационного старения были получены данные, свидетельствующие о восстановлении структурной организации и функций тимуса [65].

Таким образом, применение РП способствует восстановлению большинства показателей, характеризующих функциональную активность тимуса, как при естественном, так и при радиационном старении, что также свидетельствует о возможности пептидной коррекции возрастной инволюции тимуса, ключевым звеном которой, вполне вероятно, является активация экспрессии белков теплового шока. В то же время восстановление функции тимуса при старении, а также при развитии вторичных иммунодефицитов сопровождается нормализацией сосудисто-тромбоцитарного гемостаза, свёртывания крови и фибринолиза [23, 25, 26, 72, 108].

В настоящее время установлено, что шапероны являются переносчиками пептидов, образуемых самыми различными клетками. Более того, HSP-ассоциированные пептиды служат антигенными отпечатками клеток или тканей, из которых они выделены [86, 96]. В то же время синтезированные на основе исследования аминокислотного состава экстрактов тканей пептиды, по-видимому, являются естественными продуктами жизнедеятельности клеток [25]. Если это так, то нет ничего удивительного в том, что они вступают во взаимодействие с рецепторными участками ДНК и непосредственно с белками теплового шока.

Мы считаем, что на этом защитная роль шаперонов и РП не исчерпывается. Учитывая высокое сродство шаперонов, в том числе HSP70 и HSP90, к пептидам, можно предположить, что в ближайшее время будут созданы комплексные препараты HSP70-короткие пептиды и HSP90-короткие пептиды, благодаря чему их защитное, иммуностимулирующее и геропротекторное действие значительно усилится.

Приведенные в данном обзоре краткие сведения, бесспорно, свидетельствуют о том, что белки теплового шока, являясь регуляторами пролиферации, апоптоза, дифференцировки клеток внутриклеточного и внеклеточного гомеостаза, играют существенную роль в поддержании активности иммунной, сердечно-сосудистой, коагуляционной и других систем организма, а снижение их экспрессии коррелирует с процессами старения. При этом одной из возможностей восстановления и нормализации экспрессии белков теплового шока является применение коротких синтетических пептидов, что, вероятно, обусловливает их антистрессорную и геропротекторную активность.

### *Список литературы*


1. Алекперов Э.А., Шустова О.А., Сапожников А.М. Изменение содержания БТШ70 в клетках лимфомы EL-4b в условиях окислительного стресса // Медицинская иммунология. – 2007. – № 2-3. – С. 113-14.
2. Анисимов В.Н. Молекулярные и физиологические механизмы старения. Санкт-Петербург: Наука, 2008. – Т. 1. – 480 с.
3. Антипова Т.А., Логинов И.О., Курдюмов И.Н. и др. Влияние афобазола на содержание стресс-белка HSP70 в ткани мозга крыс при глобальной преходящей ишемии // Эксперим. и клинич. фармакол. – 2009. – № 1. – С. 29-32.
4. Балезина О.П., Герасименко Н.Ю., Дугина Т.Н., Струкова С.М. Особенности нейротропного действия тромбина // Успехи физиологических наук. – 2004. – № 3. – С. 39-49.
5. Баркаган З.С. Геморрагические заболевания и синдромы. М.: Медицина, 1988. – 528 с.
6. Бышевский А.Ш., Кузник Б.И., Витковский Ю.А. и др. Коагуляционная активность надмолекулярных частиц, циркулирующих в кровотоке, свёртываемость артериальной и венозной крови, интенсивность липидпероксидации и толерантность к тромбину // Тромбоз, гемостаз и реология. – 2007. – № 4. – С. 33-8.
7. Бышевский А.Ш., Умутбаева М.К., Алборов Р.Г. Связь гемостаза с перекисным окислением липидов. Москва: Мед. книга, 2003. – 96 с.
8. Бышевский А.Ш., Умутбаева М.К., Алборов Р.Г. Антиоксиданты в коррекции гемокоагуляционных сдвигов. Москва: Мед. книга, 2004. – 79 с.
9. Витковский Ю.А. Роль цитокинов в регуляции системы гемостаза: Автореферат дисс. ... доктора мед. наук. – Чита, 1997. – 40 с.
10. Витковский Ю.А., Кузник Б.И., Солпов А.В. Взаимодействие лейкоцитов и тромбоцитов с эндотелием и ДВС-синдром // Тромбоз, гемостаз и реология. – 2006. – № 1. – С. 15-28.
11. Витковский Ю.А., Кузник Б.И., Солпов А.В., Еделев Д.А. Блокировка интерлейкинов 4 и 10 изменяет гемостатические свойства лимфоцитов // Иммунология. – 1999. – № 5. – С. 20-23.
12. Власкин П.А., Каневский Л.М., Стрельникова Ю.И., Сапожников А.М., Коваленко Е.И. Активирующее действие белка теплового шока 70 кДа на НК-клетки человека // Иммунология. – 2007. – Т. 28, № 2. С. 74-9.
13. Горбачёва Л.Р. Нейропротективное действие ключевых протеиназ гемостаза: Автореф. дисс. … доктора мед. наук. – М., 2008. – 42 с.
14. Горбачева Л.Р., Сторожевых Т.П., Пинелис В.Г., Ишивата С., Струкова С.М. Модуляция тромбином и фактором Ха выживаемости гиппокампальных нейронов // Биохимия. – 2006. – 71(10). – С. 1338-46.
15. Горбачева Л.Р., Сторожевых Т.П., Пинелис В.Г., Струкова С.М. Активированный протеин С защищает нейроны мозга от глутаматной эксайтотоксичности // Матер. III-ей Всеросс. науч. конф. «Клиническая гемостазиология и гемореология в сердечно-сосудистой хирургии» (с международным участием): Москва (1-3 февраля), 2007. – С. 57-8.
16. Горбачёва Л.Р., Пинелис В.Г., Струкова С.М. Механизмы цитопротективного действия активированного протеина С при эксайтотоксичности / В кн.: Клиническая гемостазиология и гемореология в сердечно-сосудистой хирургии. М., 2009. –С. 86-8.
17. Драпкина О.М. Особенности синтеза белков теплового шока у больных постинфарктным кардиосклерозом // Клин. мед. 2004. – № 9. – С. 25-8.
18. Еделев Д.А., Витковский Ю.А., Кузник Б.И. Влияние интерлейкинов 4 и 10 на свертывание крови и фибринолиз // Тромбоз, гемостаз и реология. 2002. – № 3. – С. 33-4.
19. Задионченко В.С., Лексина К.С., Тимофеева Н.Ю. и др. Влияние ингибитора ангиотензинпревращающего фермента на окислительный стресс, функцию эндотелия у больных инфарктом миокарда // Кардиология. 2009. – № 7-8. – С. 32-7.
20. Зубаиров Д.М. Обнаружение микровезикул в крови. / В кн.: Проблемы патологии системы гемостаза. – Барнаул, 2007. – С. 70-73.
21. Зубаиров Д.М., Зубаирова Л.Д. Микровезикулы в крови, функция и их роль в тромбообразовании. М.: Геотар-Медиа, 2009. – 168 с.
22. Ивашкин В.Т., Драпкина О.М. Клиническое значение оксида азота и белков теплового шока. Интернет, 2006. – 118 с.
23. Кузник Б.И. Клеточные и молекулярные механизмы регуляции системы гемостаза в норме и патологии. Чита: Экспресс-издательство, 2010. – 828 с.
24. Кузник Б.И. Взаимосвязи иммунитета в эксперименте и клинике // Четвёртая Всероссийская конференция «Клиническая гемостазиология и гемореология в сердечно-сосудистой хирургии»: М., 2009. – С. 267-9.

25. Кузник Б.И., Васильев Н.В., Цыбиков Н.Н. Иммуногенез, гемостаз и неспецифическая резистентность организма. М., Медицина, 1989. – 326 с.

26. Кузник Б.И., Долина А.Б., Вишнякова Т.М. Лейкоцитарно-эритроцитарно-тромбоцитарные взаимодействия у детей, страдающих инфекционным эндокардитом // Тромбоз, гемостаз и реология. 2008. – № 3. – С. 31-8.

27. Кузник Б.И., Малежик Л.П., Молчанова Н.Л. Прокоагулянтная и фибринолитическая активность ультраструктур, интимы аорты в норме и при кровопотере // Проблемы гематологии и переливания крови. 1978. – № 6. С. 44-9.

28. Кузник Б.И., Малежик Л.П., Молчанова Н.Л., Русяев В.Ф. Динамика прокоагулянтной и фибринолитической активности периферических нервов при их электрической стимуляции // Физиологический журнал СССР. – 1979. – № 3. – С. 414-9.

29. Кузник Б.И., Малежик Л.П., Молчанова Н.Л., Скипетров В.П. О взаимосвязи между тромбопластической и фибринолитической активностью различных тканей // Проблемы гематологии и переливания крови. – 1981. – № 11. – С. 28-31.

30. Кузник Б.И., Скипетров В.П. Форменные элементы крови, сосудистая стенка, гемостаз и тромбоз. М., Медицина, 1974. – 332 с.

31. Линькова Н.С., Полякова В.О., Кветной И.М. Соотношение апоптоза и пролиферации клеток тимуса при его инволюции // Бюлл. эксп. биол. мед. – 2011. – Т. 151, № 4. – С. 442-444.

32. Линькова Н.С., Полякова В.О., Трофимов А.В. и др. Пептидергическая регуляция дифференцировки, пролиферации и апоптоза тимоцитов при старении вилочковой железы // Бюлл. эксп. биол. мед. – 2011. – Т. 151, № 2. – С. 203-6.

33. Линькова Н.С., Трофимов А.В., Дудков А.В. Пептиды эпифиза и коры головного мозга стимулируют дифференцировку полипотентной эмбриональной ткани // Клеточные технологии в биологии и медицине. – 2011. – № 2. – С. 97-8.

34. Макарова А.М., Горбачева Л.Р., Замолодчикова Т.С. и др. Роль рецептора PAR1 в протекторном действии активированного протеина С при неиммунной активации тучных клеток // Биомедицинская химия. – 2007. – 53(4). – С. 412-26.

35. Малайцев В.В., Богданова И.М., Макарова О.В. Белки теплового шока и их роль в развитии патологических процессов // Архив патологии. – 2008. – № 6. – С. 31-8.

36. Малежик Л.П. Клеточные механизмы регуляции системы гемостаза.: Автореф. доктора мед. наук. Л., 1985. – 40 с.

37. Малежик Л.П., Цыбиков Н.Н., Травкина Т.Ф., Альфонсов В.В. (младший). Факторы свертывания крови как биологически активные соединения // Гематология и трансфузиология. – 1983. – № 8. – С. 51-5.

38. Маргулис Б.А., Гужова И.В. Двойная роль шаперонов в ответе клетки и всего организма на стресс // Цитология. – 2009. – Т. 51, № 3. С. 219-28.

39. Маргулис Б.А., Гущина И.В. Белки стресса // Цитология. – 2000. – № 4. – С. 323-42.

40. Меерсон Ф.З., Малышев И.Ю. Феномен адаптационной стабилизации структур и защита сердца. М.: «Наука», 1993. – 158 с.

41. Мищенко В.П., Мищенко И.В. Физиология системы гемостаза. Полтава, 2003. – 124 с.

42. Мищенко В.П., Мищенко И.В., Цебржинский О.И. Перекисное окисление липидов, антиоксиданты и гемостаз. Полтава: АСМИ, 2005. – 160 с.

43. Мокрушин А.А., Павлинова Л.И., Плеханов А.Ю. Белок теплового шока (HSP70) повышает толерантность кортикальных клеток к глутаматной эксайтотоксичности // Бюлл. экспер. биол. и мед. – 2006. – №7. – С. 4-8.

44. Момот А.П. Патология гемостаза. Москва, 2006. – 104 с.

45. Момот А.П., Мамаев А.Н. Современные аспекты патогенеза, диагностики и терапии ДВС-синдрома // Клиническая онкогематология. – Январь-март 2008 г. – Т.1, № 1. – С. 63-71.

46. Нагорнев В.А., Мальцева С.В., Селивестрова В.Г. и др. Chlamydia Pneumoniae как патогенетический фактор риска в развитии атеросклероза и его осложнений // Арх. пат. – 2004. – Вып. 66, № 2. – С. 52-9.

47. Нагорнев В.А., Пигаревский П.В., Мальцева С.В. Шапероны и их роль в атерогенезе // Вестник Российской АМН. – 2008. – № 1. – С. 41-5.

48. Назаров В.А., Круглов С.П., Хоменко И.П. и др. Инверсия феномена репрограммирования стресс-ответа в липополисахаридстимулированных альвеолярных макрофагах // Бюлл. экспер. биол. и мед. – 2007. – № 10. – С. 387-90.

49. Новоселова Е.Г., Глушкова О.С., Черенков Д.А. и др. Продукция белков теплового шока, цитокинов и оксида азота при токсическом стрессе. // Биохимия. - 2006. Вып. 4. – С. 471-80.

50. Остров В.Ф., Слащёва Г.А., Евгеньев М.Б., Мурашев А.Н. Протекторное действие рекомбинант-

ного человеческого БТШ70 на систему гемостаза при моделировании сепсиса у крыс: Четвёртая Всероссийская конференция «Клиническая гемостазиология и гемореология в сердечно-сосудистой хирургии». – М., 2009. – С. 368-9.

51. Панасенко О.О., Ким М.В., Гусев Н.Б. Структура и свойства белков теплового шока // Успехи биол. химии. – 2003. – Т. 43. – С. 59-98.

52. Папаян Л.П. Современные представления о механизме регуляции свёртывания крови // Тромбоз, гемостаз и реология. – 2003. – № 2. – С. 11-17.

53. Перцев С.С., Коплик Е.В., Калиниченко Е.В., Симбирцев А.С. Влияние интерлейкина 1β на перекисное окисление липидов в эмоциогенных структурах головного мозга крыс при острой стрессорной нагрузке // Бюл. экспер. биол. и мед. – 2010. – № 7. – С. 13-17.

54. Полякова В.О., Князькин И.В., Коновалов С.С., Кветной И.М., Трофимов А.В., Чернышова Е.Н., Чебракова А.Ю. Эффекты действия мелатонина на старение клеток тимуса и периферические Т-лимфоциты in vitro // Успехи геронтологии. – 2005. – Вып. 17. – С. 10-14.

55. Полякова В.О., Линькова Н.С., Пичугин С.А. Динамика процессов апоптоза и пролиферации клеток пинеальной железы человека при старении // Бюлл. эксп. биол. мед. – 2010. – Т. 150, № 10. – С. 443-5.

56. Пшеничникова М.Г., Белкина Л.М., Бахтина Л.Ю. и др. // Рос. физиол. журнал, 2001. – Т. 9. – С. 1171-7.

57. Пшеничникова М.Г., Зеленина О.М., Круглов С.В. и др. Синтез белков теплового шока (HSP) в лейкоцитах крови как показатель устойчивости к стрессорным повреждениям // Бюл. экспер. биол. и мед. – 2006. – № 12. – С. 614-7.

58. Русяев В.Ф., Кузник Б.И. Факторы свёртывания и процесс возбуждения клеток // Успехи физиол. Наук. – 1977. – № 2. – С. 94-111.

59. Сахаров Д.А., Степанов А.В., Шкуриков М.Ю., Тоневицкий А.Г. Кратковременный высокоинтенсивный физиологический стресс вызывает увеличение экспрессии белка теплового шока в лейкоцитах человека // Бюлл. экспер. биол. и мед. 2009. – № 3. – С. 335-6.

60. Северин С.Е., Посыпанова Г.А., Москалёва Е.Ю. Разработка новых подходов к лечению рака с помощью препаратов направленного действия и вакцин на основе белка теплового шока rHsp70 // Молек. биол. – 2008. – № 4. С. 9-17.

61. Скипетров В.П., Кузник Б.И. Акушерский тромбогеморрагический синдром. Иркутск: «Северо-восточное книжное из-во», 1973. – 320 с.

62. Струкова С.М. Тромбин – регулятор воспаления и репарации тканей // Биохимия. – 2001. – Т. 66. – С. 14-27.

63. Струкова С.М. Роль тромбоцитов и сериновых протеиназ в сопряжении свёртывания крови и воспаления // Биохимия. – 2004. – Том 69, вып. 10. – С. 1314-31.

64. Струкова С.М., Горбачева Л.Р., Макарова А.М. Нейропротекторные и противовоспалительные функции агонистов рецепторов, активируемых протеиназами // Матер. IV-го симпозиума «Химия протеолитических ферментов», Москва (23-25 апреля), 2007. – С. 46.

65. Хавинсон В.Х. Пептидная регуляция старения. СПб.: Наука, 2009. – 50 с.

66. Хавинсон В.Х., Анисимов В.Н. Пептидные биорегуляторы и старение. – СПб., 2003. – 223 с.

67. Хавинсон В.Х., Анисимов В.Н. 35-летний опыт исследований пептидной регуляции старения // Успехи геронтол. – 2009. – Т. 22, № 1. – С. 11-23.

68. Хавинсон В.Х., Анисимов С.В., Малинин В.В., Анисимов В.Н. Пептидная регуляция генома и старение. М.: Издательство РАМН, 2005. – 208 с.

69. Хавинсон В.Х., Линькова Н.С., Полякова В.О., Дудков А.В., Кветной И.М. Возрастная динамика дифференцировки иммунных клеток тимуса человека // Бюлл. эксп. биол. мед. – 2011. – Т. 151, № 5. – С. 569-72.

70. Хавинсон В.Х., Линькова Н.С., Трофимов А.В., Полякова В.О., Севостьянова Н.Н., Кветной И.М. Морфофункциональные основы пептидной регуляции старения // Успехи современной биологии. – 2011. – Т. 131, № 2. – С. 115.

71. Хама-Мурад А.Х., Павлинова Л.И., Мокрушин А.А. Геморрагический инсульт: молекулярные механизмы патогенеза и перспективные терапевтические мишени // Успехи физиол. Наук. – 2008. – № 3. – С. 45-65.

72. Цыбиков Н.Н. Материалы по взаимосвязи иммуногенеза и гемостаза в эксперименте: Автореферат дисс. … доктора мед. наук, Л., 1983. – 42 с.

73. Цыбиков Н.Н., Лиханов И.Д., Цыбиков М.Н. Постоянное внутрисосудистое свёртывание крови и ДВС-синдром при гнойной хирургической инфекции // Четвёртая Всероссийская конференция «Клиническая гемостазиология и гемореология в сердечно-сосудистой хирургии»: М., 2009. – С. 570-2.

74. Шилова В.Ю., Гарбуз Д.Г., Евгеньев М.Б., Зацепина О.Г. Низкомолекулярные белки теплового шока и адаптация к гипертермии у разных видов Drosophila // Молекулярная биология. – 2006. – № 2. – С. 271-6.

75. Шитикова А.С. Тромбоцитопатии, врождённые и приобретённые. Санкт-Петербург, 2008. – 380 с.

76. Шойхет Я.Н., Лепилов А.В., Мотин Ю.Г. Перспективы развития клинической морфологии клеточно-тканевых взаимодействий при гнойно-деструктивных заболеваниях лёгких // Проблемы клинич. мед. – 2006. – № 4. – С. 94-100.

77. Шойхет Я.Н., Момот А.П. О роли и взаимосвязи гемостатических и воспалительных реакций в формировании очагов гнойной деструкции органов и тканей // Проблемы клинической медицины. – 2008. – № 4. – С. 102-17.

78. Adewoye A.H., Kings E.S., Farber H.W. et al. Sickle cell vasoocclusive crisis induces the release of circulating serum heat shock protein-70 // Amer. J. Hematol. - 2005. – N 3. – P. 240-2.

79. Aken B.E., Reitsma P.H., Rosendaal F.R. Interleukin 8 and venous thrombosis: evidence for a role of inflammation in thrombosis // J. Haematol. – 2002. – V. 116, N 1. – P. 173-7.

80. Amberger A., Maszek C., Jurgens G. et al. Co-expression of ICAM-1, VCAM-1, ELAM-1 and HSP60 in human arterial and venous endothelial cells // Cell Stress Chaperones. – 1997. – N 2. – P. 94-103.

81. Anisimov V.N., Khavinson V.Kh. Peptide bioregulation of aging: results and prospects // Biogerontology. – 2010. – Vol. 11. – P. 139.

82. Anzini A., Cassone A., Rasura M. et al. Clamydia pneumoniae infection in young stroke patients // Europ. J. Neurol. – 2004. – V. 11, N 5. – P. 321-7.

83. Asea A., Kabingu E., Stevenson M.A., Calderwood S.K. HSP70 peptidembearing and peptide-negative preparations act as chaperokines // Cell Stress Chaperones. – 2000. – V. 5, № 5. – P. 425-31.

84. Balashowa N., Chang F.-J., Lamothe M. et al. Charisation of a novo type of endogenous activator of soluble guanylylcyclase // J. Biol. Chem. – 2005. – N 3. – P. 2186-96.

85. Bartan A., Ku Z., Virok D. et al. Independent and Joint effects of antibodies to human heat shock protein 60 Chlamydia pneumoniae infections in the development of coronary atherosclerosis // Circulation. – 2001. – V. 101. – P. 1503-8.

86. Bendz H., Ruhland S.C., Pandya M.J. et al. Human heat shock protein 70 enhances tumor antigen presentation through complex formation and intracellular antigen delivery without innate immune signaling // J. Biol. Chem. – 2007. – V. 282. – P. 31688-702.

87. Bernando A., Ball C., Nolasco L. et al. Effect of inflammatory cytokines on the release and cleavage of the endothelial cell-derived ultralarge von Willebrand factor multimers under low // Blood. – 2004. – V. 104. – P. 100-6.

88. Bivik C., Rosdahl I., Ollinger K. Hsp-70 protects against UVB induced apoptosis by preventing release of cathepsins and cytochrome in human melanocytes// Carcinogenesis. – 2007. – V. 28. – P. 537-544.

89. Burian K., Kis Z., Virok D. et al. Independent and joint effects of antibodies to humen heat-shock protein 60 and Chlamydia pneumoniae infection in the development of coronary atherosclerosis // Circulation. – 2001. – N 11. – P. 1503-8.

90. Caplan A.J. What is a co-chaperone? // Cell Stress & Chaperones. – 2003. – V. 8, № 2. – P. 105–7.

91. Chang Y.W., Sun Y. J., Wang C., Hsiao C.D. Crystal structures of the 70 heat shock proteins in domain disjoining conformation // J. of biological chemistry. – 2008. – V. 283. – P. 15502-11.

92. Chayour-Mobarhan M., Sahebkar A., Parizaden S.M. et al. Antibody titres to heat shock protein 27 are elevated in patients with acute coronary syndrome // Int. J. Exp. Pathol. – 2008. – N 3. – P. 209-15.

93. Conroy S.E., Sasieni P.D., Avin V. et al. Antibodies to heat shock protein 27 are associated with improved survival in patients with breast cancer // Brit. J. Cancer. – 1998. – N 11. – P. 1875-9.

94. Dillman W.H., Mestril R. Heat shock proteins in myocardial stress // J. Kardiol. – 1995. – V. 84, Suppl 4. – P. 87-90.

95. Dura J. Stage dependent synthesis of heat shock induced proteins in early embryos of drosophila melanogaster // Mol. Genet. – 1981. – V. 184. – P. 381-5.

96. Fletchner J.B., Cohane K.P., Mehta S. et al. High-affinity interactions between peptides and heat shock protein 70 augment CD8+ T lymphocyte immune responses // J. Immunol. – 2006. – V. 177. P. 1017-27.

97. Fung K.L., Hilgenberg L., Wang N.M., Chiroco W.J. Conformations of the nucleotide and polypeptide binding domains of a cytosolic hsp70 molecular shaperones are couple // J. Biol Chem. – 1996. – N. 35. – P. 21559-65.

98. Hartl F.U. Molecular chaperones in cellular protein folding // Nature. – 1996. – V. 381, № 6583 – P. 571–80.

99. Haslbeck M., Franzmann T., Weinfurtner D., Buchner J. Some like it hot: the structure and function of small heat-shock proteins // Nature Structural and Molecular Biology. – 2005. – V. 12, № 10. – P. 842–6.

100. Hooven T.A., Yamamoto Y., Jeffer W.R. Bing cavefish and heat shock protein chaperones: a novel role HSP90α in lens apoptosis // Int. J. Dev. Biol. – 2004. – V. 48, № 3. – P. 731-8.

101. Huot J., Houle F., Spitz D.R. et al. HSP27 phosphorilation mediated Resistance against Actin Fragmentation and cell Death induced by oxidative stress // Cancer Res. – 1996. – V. 56. – P. 273-9.

102. Guo-Chang Fan, Ren X., Qian J. et al. Novel cardioprotective role of a small heat-shock protein // Amer. Heart Associat. – 2005. – V. 111. – P. 1792-9.

103. Khavinson V. Kh. Peptides and aging. Neuroendocrinology Lett. Special Issue, 2002.

104. Khavinson V. Kh., Malinin V.V. Gerontological aspects of genome peptide regulation. Karger AG, Basel. 2005.

105. Khavinson V.Kh., Fedoreeva L.I., Vanyshin B.F. Short peptides Modulate the Effect of Endonucleases of Wheat Seedling // Biochemistry, Biophysics and Molecular Biology. – 2011. – Vol. 437, N 1. – P. 124.

106. Kleemann R., Zadelaar S., Kooistra T. Cytokines and atherosclerosis: a comprehensive review of studies in mice // Cardiovasc. Res. – 2008. – V. 79, N 3. – P. 360-76.

107. Kozava O., Matsuno H., Niva M. et al. HSP20, low-molecular weight heat shock related protein, acts extracellularly as a regulator of platelet functions // Live Sci. – 2002. – N 2. – P. 113-24.

108. Kuznik B.I., Tsibikov N.N. Cytokines, Immunoglobulins and Hemostasis // Hematol. Rev. – 1996. – V. 7, Part 2. – P. 43-70.

109. Lee Y. K., Manalo D., Liu A.Y. Heat shock response, heat shock transcript HEAT-tion factor and cell aging// Biol. Signals. – 1996. – № 5. – P. 180–91.

110. Leinonen N., Saikkcu P. Evidence for infectious agents in cardiovascular disease and atherosclerosis // Lancet infect. Dis. – 2002 – № 2. – P. 11-17.

111. Lindquist S., Graig E.A. The heat-shock proteins // Ann. Rev. Genet. – 1998. – V. 22. – P. 631-77.

112. Lithgow G.J., White T.M., Hinerfeld D.A., Johnson T. E. Thermotolerance of a long-lived mutant of Caenorhabditiselegans// J. Gerontol. – 1994. – V. 49B. – P. 270–6.

113. Lithgow G. J. Invertebrate gerontology: the age mutations of Caenorhabditiselegans// Bio Essays. – 1996. – V 18. – P. 809–15.

114. Lowe Gordon D.O., Rumley A., McMahan A.D. et al. Interleukin 6, fibrin, D-dimer, and coagulation factors VII and XIIa in prediction of coronary heart disease // Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vasc. Biol. – 2004. – N 8. – P. 1529-34.

115. Lu Q., Wallrath L.L., Granok H., Elgin S.C. Expression of heat shock protein 70 is altered by age and diet at the level of transcription // Mol. Cell Biol. 1993. – V. 13. – P. 2909–18.

116. Marin R., Valet J.P., Tanguay R.M. Heat shock induces changes in the expression and binding of ubiquitin in senescent Drosophila melanogaster// Dev. Genet. – 1993. – V. 14. – P. 78–86.

117. Metzler B., Abia R., Ahmad M. et al. Activation of heat shock transcription factor 1 in atherosclerosis // Am. J. Pathol. – 2003. – V. 162, N 5. – P. 1669-76.

118. Nardai G., Vegh E., Prohaszka Z., Csermely P. Chaperonerelated immune dysfunctions: An emergent property of distorted chaperone-networks // Trends Immunol. - 2006. – V. 27. – P. 74–9.

119. Njemini R., Lambet M., Demanel C.H. et al. Heat shock protein in human peripheral blood mononuclear cell // J. Clin. Immunol. – 2005. – N 5. – P. 405-17.

120. Pearl L.H., Prodromou C. Structure and mechanism of the Hsp90 molecular chaperone machinery // Annual Review of Biochemistry. – 2006. – V. 75. – P. 271–94.

121. Perschinka H., Mayr M., Millonig G. et al. Gross-reactive B-cell epitopes of microbial human heat shock protein 60/65 in atherosclerosis // Artetioscler. Thromb. Vasc. Biol. – 2003. – N 6. – P. 1060-5.

122. Pockley A.G. Heat shock proteins as regulation of the immune response // Lancet. – 2003. – V. 362. – P. 469-76.

123. Polyakova V.O., Linkova N.S., Pichugin S.A. Dynamics of apoptosis and proliferation of pineal gland cells of in aging // Bull. Exp. Biol. Med. – 2010. – Vol. 150, N 4. – P. 468.

124. Ranford J.C., Henderson B. Chaperones in disease: mechanisms, models, and treatments // Mol. Pathol. – 2002. – V. 55, N 4. – P. 209-13.

125. Ritossa F.A. A new puffing pattern induced by temperature shock and DNP in Drosophila // Experientia – 1962. – V. 18. – P. 571-3.

126. Shams S., Shati L., Bodman-Smith K. et al. Anti-heat shock protein-27 (Hsp-27) antibody levels in patients with pain: association with established cardiovascular risk factors // Int. J. Exp. Pathol. – 2008. – N 1-2. – P. 42-6.

127. Sharp F.R., Sagar S.M. Alterations in gene expression as an index of neuronal injury // Neurotoxicology. – 1994. – N 1. – P. 51-9.

128. Soti C., Csermely P. Chaperones and aging // Neurochem. Int. – 2002. – V. 41, N 6. – P. 383-9.

129. Soti C., Nagy E., Giriez Z. et al. Heat shock proteins as emerging therapeutic targets // Brit. J. Pharmacol. – 2005. – N 6. – P. 769-80.

130. Szotowski B., Antoniak S., Poller W. et al. Procoagulant soluble tissue factor is released from endothelial cells in response to inflammatory cytokines // Cir. Res. – 2005. – V. 96, N 12. – P. 1233-9.

131. Tatar M., Khazaeli A.A., Curtsinger J.W. Chaperoning extended life // Nature. – 1997. – V. 390. – P. 30.

132. Tissieres A., Mithell H.K., Tracy U.M. Protein synthesis in salivary glands of drosophila melanogaster // J. Mol. Biol. – 1974. – V. 84. – P. 389-98.

133. Ushijama T., Aisuta H., Uisugi N. et al. Simvastatin induced heat shock factor in vascular endothelial cells // Atherosclerosis. – 2006. – V. 188, N 2. – P. 265-73.

134. Welch W.G., Suhan J.P. Cellular and biochemal events in mammalian cells during and after recovery from physiological stress // J. Cell. Biolog. – 1986. – V. 103. – P. 2035-52.

135. Wick G., Knoflach M., Xu Q. Autoimmune and inflammatory mechanisms in atherosclerosis // Annu. Rev. Immunol. – 2004. – V. 22. – P. 361-403.

136. Xu Q. Role of heat shock proteins in atherosclerosis // Thromb. Vasc. Biol. – 2002. – V. 22. – P. 1547-59.

137. Xu Q. Infections, heat shock proteins, and atherosclerosis // Cur. Opin Cardiol. – 2003. – V. 18, N 4. – P. 245-52.

138. Xu Q., Kleindienst R., Schett G. et al. Regression of arteriosclerotic lesions induced by immunisation with heat shock protein 65-containing material in normocholesterolemic, but not hypercholesterolemic rabbits // Atherosclerosis. – 1996. – V. 123. – P. 1078-85.

139. Zhou J., Schmid T., Frank R. et al. Required for Heat Shock Proteins to Protect Hypoxia // J. Biol. Chem. – 2004. – V. 279. – P. 13506-13.

# Роль хронического сосудистого воспаления в патогенезе атеротромботических поражений артерий. Подходы к терапии больных

**Г. И. Костюченко[1], Д. А. Арзамасцев[1], Д. А. Ананьев[2], А. Д. Цалихин[3], Л. А. Костюченко[3]**
**[1] – НИИ терапии СО РАМН, Новосибирск**
**[2] – ГУЗ «Алтайский краевой кардиологический диспансер», Барнаул**
**[3] – ГОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет», Барнаул**

Согласно современным представлениям, атеросклероз представляет собой мультифакторное заболевание, которое начинается в раннем детстве и постепенно прогрессирует в течение всей жизни [6]. В основе патогенеза атеросклероза лежат метаболические нарушения, способствующие повреждению эндотелия сосудов, формированию хронического вялотекущего воспаления сосудистой стенки. Морфологическим субстратом атеросклероза являются атероматозные бляшки и утолщение интимы/медии, вследствие гиперплазии гладкомышечных клеток артерий.

Клинически атеросклероз обычно манифестируется во взрослом возрасте и проявляется в форме стенокардии или инфаркта миокарда, транзиторных ишемических атак или ишемического инсульта, а также тромбоблитерирующих поражениях периферических артерий.

Исследования, проведенные в последние 20 лет убедительно показали, что клиническая манифестация атеросклероза зачастую связана с внезапно возникающим тромбозом коронарных, мозговых и периферических артерий. В большинстве случаев это связано не столько с увеличением объема атеросклеротических бляшек и перекрытием просвета кровеносного сосуда, сколько с внезапно наступающим их разрушением из-за повреждения покрывающего бляшки эндотелия и интенсивного образования в этих участках агрегатов тромбоцитов и лейкоцитов. Именно с таким «развалом» бляшек связан феномен внезапного тромбоза коронарных, мозговых и периферических артерий у пациентов, которые до этого в течение многих лет оставались во вполне удовлетворительном состоянии, несмотря на длительное наличие, подчас весьма выраженного атеросклероза. Это привело к признанию того факта, что атеросклероз сам по себе остается длительно компенсируемым метаболическим нарушением, и лишь внезапно наступающий развал склеротических бляшек ведет к тем трагическим последствиям, которые диагностируются, как инфаркт миокарда, острое нарушение мозгового кровообращения, облитерация периферических артерий туловища и конечностей.

Новый подход к пониманию таких «непредвиденных» катастроф наметился после того, как была установлена их связь с внезапным разрушением атеросклеротических бляшек и активации коагуляционного потенциала крови- процессом, обозначенным, как «атеротромбоз».

Многочисленные исследования показали, что далеко не всегда развал бляшек пропорционален их величине и нередко деструкция этих бляшек в разных сосудах совпадает во времени. Работы, проведенные в последние годы, убедительно указывают на то, что деструкция (или дестабилизация) значительно чаще возникает в более «молодых» и ангиографически «незначимых» атероматозных бляшках, которые в большей степени подвержены повреждению, причем начало процесса деструкции и его интенсивность не зависят от исходного уровня липидов в крови [30]. Эти данные свидетельствуют о том, что есть какой-то общий нелипидный механизм, способствующий разрушению атеросклеротических бляшек.

На основе этих данных возникло совре-

менное понимание патогенеза атеросклероза, связанное с разделением его на периоды стабильного и нестабильного течения. Установлено, что клиническая манифестация атеросклероза и переход в нестабильное течение сопряжены с повреждением эндотелия, распадом бляшек, повышенной адгезивной и агрегационной активностью тромбоцитов и лейкоцитов, активацией воспалительного процесса [5, 10, 16, 19, 26, 30, 63] и повышенным риском тромбоэмболии и инфаркта органов [24, 53]. В многочисленных исследованиях установлено, что при нестабильном течении атеросклероза в крови больных повышается содержание СРБ, интерлейкина-6, фибриногена и других маркеров системного воспалительного процесса [1,2, 8, 25, 27, 31, 33, 35, 40, 42, 44–46, 48, 51]. Доказано, что основной мишенью этого воспалительного процесса служит сосудистый эндотелий, в результате чего он подвергается деструкции, утрачивает тромборезистентность и способность противостоять агрегации тромбоцитов и фибринообразованию, легко отторгается от сосудистой стенки. Свидетелями указанной деструкции эндотелия служат увеличенное содержание эндотелиальных клеток в циркулирующей крови, а также повышение содержания в сыворотке крови фактора Виллебранда (ФВ) и эндотелина-1 (ЭТ-1) — маркеров повреждения эндотелия.

Повышение в крови пациентов с атеросклерозом концентрации провоспалительных медиаторов (СРБ, ИЛ-6, ФН и других), а также маркеров повреждения эндотелия (ЭТ-1, ФВ) является проявлением единого патологического процесса, главным звеном, которого является сосудистая воспалительная реакция, которая сопряжена с активацией системы гемостаза и повышенным риском тромбообразования [3].

Из приведенных данных следует, что выявление признаков сосудистой воспалительной реакции может, с одной стороны, помочь лечащему врачу выделить среди больных атеросклерозом группу пациентов с повышенным риском атеротромботических осложнений, а с другой, - использовать в комплексной терапии этих пациентов воздействия, устраняющие или ослабляющие проявления этой реакции.

Среди факторов повреждения эндотелия в последние годы большое внимание уделяется инфекционным агентам (лёгочные и урогенитальные хламидии, хеликобактер-пилори, вирусы простого герпеса 1 и 2, вирусы гриппа А и В, цитомегаловирус и др.). Помимо инфекционных агентов, повреждению эндотелия могут способствовать некоторые метаболические факторы такие, как гипергомоцистеинемия (ГГЦ), окисленные формы липопротеидов, гипергликемия и другие). Особый интерес в этом плане представляет ГГЦ, эндотелиотоксичность и тромбогенность которой доказана в многочисленных исследованиях, в том числе и наших [3, 4, 6, 9, 11, 13, 20, 21, 41]. Имеются свидетельства того, что ГГЦ способствует генерации свободных радикалов, а также активации тромбоцитов и моноцитов крови. Активация моноцитов, их адгезия и миграция в зону поврежденной атероматозной бляшки, продукции ими тканевого фактора свертывания – ключевые события в патогенезе атеротромбоза. Особенно важное значение имеет выявление ГГЦ в геронтологической практике, поскольку в преклонном возрасте это нарушение обмена встречается достоверно чаще, чем у более молодых пациентов. Так, существенно повышенный уровень гомоцистеина в крови (более 15,0 мкмоль/л) был обнаружен нами у 35% больных с коронарной болезнью сердца в возрасте до 60 лет и у 63% больных в возрастных группах старше 60 лет ($p<0,01$). Установлена связь выраженности ишемических нарушений, выявляемых у больных с тромбоангиитом артерий нижних конечностей и уровнем сопутствующей ГГЦ.

В 2000 году нами совместно с д.м.н., профессором Баркаганом З. С. впервые в России был создан препарат «Ангиовит» для коррекции ГГЦ.

Более, чем 10 летний опыт применения «Ангиовита» в широкой клинической практике свидетельствует о высокой эффективности препарата при тромботических поражениях артерий различной локализации. Показано, что длительный прием внутрь препарата «Ангиовит» устраняет ГГЦ более чем у 85% пациентов с сенрдечно-сосудистой патологией, что сопровождается повышением перфузии миокарда, улучшением клинического состояния больных с коронарной болезнью сердца и цереброваскулярными ишемическими поражениями, сахарным диабетом 2 типа, снижением в крови пациентов маркеров сосудистой воспалительной

реакции [7], а также улучшает прогноз при хирургических вмешательствах на коронарных и периферических сосудах.

В последнее время все большее распространение получают хирургические методы лечения тромбооклюзионных заболеваний сосудов различной локализации. Все более широко используются методы реконструктивной хирургии сосудов, включая ангиопластику и стентирование. Одним из серьезных осложнений этих оперативных вмешательств является развитие рестеноза. В последние годы появляется все больше данных, свидетельствующих о важной роли сосудистого воспаления в патогенезе рестеноза сосуда, подвергшегося ангиопластике. По нашим данным, развитие рестеноза сосудов после ангиопластики в значительной степени зависит от выраженности сосудистого воспаления, что подтверждается более высокими концентрациями СРБ, ИЛ-6, ФН, ФВ и ЭТ-1 в крови пациентов.

Воспалительная концепция патогенеза атеротромбоза потребовала пересмотра всего комплекса терапевтических воздействий при указанной патологии и более широкого внедрения в лечение этих больных препаратов ангиопротекторного действия.

В первую очередь был пересмотрен эффект препаратов, снижающих содержание в крови больных холестерина общего и в липопротеинах низкой плотности, а также триглицеридов. К первой группе, как известно, относятся статины (аторвастатин, симвастатин, провостатин, флувастатин, ловастатин), ко второй — фибраты (гемфиброзил, фенофибрат).

Основные эффекты статинов: снижение синтеза в печени липопротеинов низкой плотности (снижение активности 3-гидрокси-3-метилглютарил-КОА-редуктазы), умеренное снижение уровня триглицеридов и повышение липопротеинов высокой плотности, снижение окисления липопротеинов низкой плотности, противовоспалительное действие и стабилизация бляшек, снижение сосудистых и атерогенных катастроф на 37–45%, лучшая выживаемость при хирургических вмешательствах на сосудах.

Протективный эффект статинов в определенной степени зависит от дозировки препарата, возраста пациентов (старше 80 лет — малоффективны), пола (у женщин старше 65 лет, по данным ряда исследований — неэффективны) сопутствующей патологии (при сахарном диабете 2 типа, практически неэффективны).

Побочные эффекты статинов: нарастание концентрации печеночных ферментов в сыворотке крови, болезненность мышц.

У пациентов с бессимптомными нейромышечными заболеваниями (миотоническая дистрофия, спинально-бульбарная мышечная атрофия, митохондриальная миопатия, болезнь Мак-Ардла) прием статинов может ускорить и усугубить их течение.

Недавно опубликованные результаты проспективных исследований свидетельствуют о том, что и у больных острым инфарктом миокарда, а также с ишемическим инсультом внезапное прекращение приема статинов сопряжено с более высоким риском смерти, развития повторного инфаркта, а также формированием ранних постинсультных неврологических осложнений, что необходимо учитывать при назначении пациентам препаратов данной группы.

Показания к широкому применению фибратов в настоящее время ограничивается значительной частотой побочных эффектов, наблюдаемых при приеме препаратов этой группы. Кроме того, фибраты способствуют повышению в крови уровня гомоцистеина.

В многочисленных испытаниях последних 15 лет установлено, что независимо от их липидоснижающего эффекта, статины оказывают на сосуды противовоспалительное действие, снижают у больных уровень СРБ и других острофазных белков, а также провоспалительных цитокинов в крови, повышают антиагрегационные свойства эндотелия и стабилизируют атеросклеротические бляшки, препятствуя развитию атеротромбоза [15, 28, 32, 36, 39, 47, 49, 54, 56, 60, 64]. Важно, что все эти, еще недавно неизвестные защитные свойства статинов, проявляются как у больных с гиперлипидемией, так и при отсутствии последней, причем подавление ими системной сосудистой воспалительной реакции регистрируется довольно рано — уже через 2–3 недели от начала приема препаратов, в то время когда уровень липидов в крови пациентов еще не снижается

Суммируя вышеизложенное, можно сказать, что положительный клинический эффект, наблюдаемый у больных с атеротромбозом при

приеме статинов, связан в большей степени с их противовоспалительным и эндотелий протективным свойством, а не с липидоснижающим действием.

Из приведенных данных следует, что при назначении больным статинов не следует руководствоваться только анализом липидного состава крови, а учитывать и важную роль хронического сосудистого воспаления в патогенезе атеросклероза [50]. Видимо, с этим комплексным эффектом связано то, что статины на 37–42% снижают частоту коронарной и церебральной смерти [2].

Помимо статинов, основой для проведения вторичной профилактики сердечно-сосудистых осложнений продолжают оставаться антитромбоцитарные препараты. Антитромбоцитарные препараты — малые дозы аспирина (до 100 мг/день) в сочетании с клопидогрелем в дозах 75–37,5 мг/день не только подавляют спонтанную и индуцированную агрегацию тромбоцитов, но и способствуют нормализации взаимодействия последних с поврежденными эндотелиальными клетками, способствуют снижению содержания в крови С-реактивного белка [10].

Однако, следует иметь ввиду, что от 5 до 60% пациентов не чувствительны к антитромбоцитарному действию препаратов типа аспирин или клопидогрель. Подобный феномен «резистентности» проявляется недостаточным снижением агрегационной активности тромбоцитов после длительного приема пациентом аспирина или клопидогреля. Исследования, проведенные в последние годы, свидетельствуют о важной роли аспиринорезистентности в патогенезе сердечно-сосудистых осложнений, ассоциированных с атеротромбозом. Общая смертность в группе «аспиринорезистентных» пациентов с сердечно-сосудистой патологией возрастает в 6 раз, а число инфарктов миокарда, инсультов и тромбозов периферических артерий возрастает в 4 раза по сравнению с группой пациентов с нормальной чувствительностью к аспирину. Процент пациентов, «резистентных» к антитромбоцитарным препаратам, значительно возрастает при нестабильном течении атеросклероза (нестабильная стенокардия, транзиторные ишемические атаки). По нашим данным, а также результатам других исследователей, у пациентов с резистентностью к аспирину или плавиксу более выражены признаки сосудистого воспаления, что подтверждается повышенной концентрацией СРБ и ЭТ-1.

Своеобразный феномен «индуцированной» аспиринорезистентности выявляется в группе кардиохирургических больных (до 60% случаев), оперированных в условиях искусственного кровообращения (ИК), что, по всей видимости, связано с длительным контактом крови с чужеродной поверхностью (контур аппарата) и формированием системной сосудистой воспалительной реакции. Причем, смертность в группе аспиринорезистентных пациентов после проведенного аорто-коронарного шунтирования в условиях ИК существенно выше, нежели у пациентов с «нормальной» чувствительностью к препарату.

При выявлении феномена резистентности, к какому либо из антитромбоцитарных препаратов (аспирин, клопидогрель), необходимо заменить препарат на другой, на который у пациента нет резистентности.

Из вазопротекторов в профилактике и терапии атеротромбоза существенное место занимают гепаран-сульфаты и их комбинации с дерматан-сульфатами. В России из этой обширной группы препаратов чаще всего используется сулодексид, вазопротекторный эффект которого связан с его способностью повышать отрицательный заряд и антиагрегационную активность эндотелиальных клеток, повышать резистентность последних к воздействию гомоцистеина, медиаторов воспаления, цитокинов и лейкоцитарных протеаз, ингибировать адгезию тромбоцитов и лейкоцитов к поврежденному эндотелию [12]. Все эти эффекты сулодексида достижимы лишь при его длительном применении. Вначале он назначается внутримышечно по 300 ЛЕ 2 раза в сутки в течение 2–3 недель, а затем внутрь по 2–3 капсулы в день в течение 2–6 мес. и более. С этой же целью можно использовать оргаран (ломопаран) подкожно или внутримышечно по 750–1500 ед/сут. Профилактический эффект гликозаминогликанов подтвержден рядом рандомизированных испытаний, в том числе у больных сахарным диабетом 2 типа [12, 14, 22, 34, 43, 61].

С целью снижения вязкости крови и улучшения микроциркуляции в течение многих лет широко используется прием внутрь пентоксифиллина, эффективность которого регистрируется лишь при суточной дозе препарата не менее

1200 мг, в ранее применявшихся меньших дозах эффективность его не была подтверждена. Вместе с тем пока не установлено действие пентоксифиллина на атеротромботический процесс, хотя нельзя исключить косвенного его влияния на тромборезистентность эндотелия.

В профилактике атеротромботических осложнений определенное место могут занять гепаринизация, в частности длительный прием per os энтерально всасываемого гепарина в комплексе с его носителем — SNAC [17], а также очищенный концентрат антитромбина III, защищающего мембраны эндотелиальных клеток от повреждения липопротеинсульфатами [59].

Общеизвестно ангиопротекторное действие микронизированных флавоноидов, к которым относятся такие препараты, как диосмин (детралекс) и эндотелон, состоящий из процианидоловых олигомеров. Длительный прием этих препаратов, используемых в основном в качестве противоотечных средств, вероятно, может оказаться полезным для ослабления системной воспалительной реакции, свойственной атеротромботическому процессу. Однако, хотя рандомизированные испытания на больных с атеротромбозом в этом направлении пока не проведены, тем не менее установлено, что очищенные фракции флавоноидов при приеме внутрь в терапевтических дозах подавляют в зоне микроциркуляции воспалительные изменения, в частности уровень молекул адгезии лейкоцитов к сосудистой стенке (ICAM-1 и VCAM-1) [37, 57, 58], повышая почти вдвое резистентность стенок микрососудов к механическим воздействиям и снижая ломкость капилляров [29]. Эти эффекты сочетаются с известным противоотечным действием детралекса и эндотелона.

Учитывая защитное, вазодилатационное, антиагрегантное и противовоспалительное действие оксида азота, продуцируемого эндотелиальными клетками при помощи фермента NO-синтазы, перспективным представляется применение в терапии атеросклеротических нарушений донатора NO-L-аргинина. Данные, полученные в эксперименте, свидетельствуют о выраженном протективном эффекте L-аргинина в отношении развития атероматоза и ксантоматоза у соответствующих генетических линий мышей. При сравнительном изучении L-аргинина, вводимого парентерально и вазопростана получены сравнимые по эффективности результаты в группах больных с критическими ишемиями нижних конечностей.

В 2010 году опубликованы обнадеживающие данные о высокой эффективности L-аргинина при лечении пациентов с выраженными ишемическими поражениями ног на фоне тромбоблитерирующих поражений дистальных отделов артерий нижних конечностей и не подлежащих реконструктивным оперативным вмешательствам.

Поскольку клинический эффект от применения L-аргинина в значительной степени зависит от его лекарственной формы и дозы, необходимы дальнейшие исследования по уточнению показаний и подбора эффективных дозировок этого препарата с целью профилактики и терапии атеротромботических поражений сосудов.

В заключение следует отметить, что воспалительная концепция атеротромбоза явилась стимулом к совершенствованию профилактики и терапии этого широко распространенного и доминирующего вида патологии.

При этом произошло разграничение стабильных и нестабильных форм атеросклеротических бляшек, уточнены лабораторные критерии отграничения этих разновидностей процесса друг от друга, выявились ранее неизвестные эффекты как давно применяемых антисклеротических средств, так и ряда вновь испытываемых вазопротекторных препаратов. Особенно важно, что учет этих новых данных и контроль за маркерами системной сосудистой воспалительной реакции позволяет более обоснованно выделять из общей массы пациентов, больных с повышенным тромбогенным риском, своевременно проводить обоснованное профилактическое и лечебное воздействие.

### *Список литературы*


1. Алексеева И.А., Лякишев А.А., Ткачук В.А. и др. Белки острой фазы и рецидив стенокардии после успешной коронарной ангиопластики. Тер. арх. 2002;34: 42-46.
2. Баркаган З.С. Место антитромбоцитарных средств в комплексной профилактике и терапии атеротромбоза. В кн: Сибирская научно-практ. конференция по актуальным вопросам фармакотерапии. Новосибирск; 1999: 7-22.
3. Баркаган З.С, Костюченко Г.И., Котовщикова Е.Ф. Гипергомоцистеинемия как самостоятельный фактор . риска поражения и тромбирования кровеносных сосудов. Патол. кровообр. и кардиохирургия. 2002; 1: 65-71.
4. Баркаган З.С, Костюченко Г.И., Костюченко Л.А.Гипергомоцистеинемия: частота, возрастные особенности, методы коррекции у больных коронарной болезнью сердца. Тромбоз, гемостаз, реология. 2003; 3: 33-36.
5. Карпов Ю.А., Сорокин Е.В., Фомичева О.А. Воспаление и атеросклероз: состояние проблемы и нерешенные вопросы. Сердце 2003; 2(4): 190-192.
6. Костюченко Г.И., Баркаган З.С. Гипергомоцистеинемия и коронарная болезнь сердца как проблема пожилого возраста. Клин, геронтол. 2003; 5: 9-12.
7. Костюченко Г.И. Гипергомоцистеинемия при коронарной болезни сердца. Дис. на соискание степени... доктора мед наук. Барнаул; 2004: 139 с.
8. Павликова Е.П., Мерай И.А. Клиническое значение интерлейкина 6 и фактора некроза опухоли а при ишемической болезни сердца. Кардиология. 2003; 8: 68-72.
9. Рудницкая Т.А. Частота, значимость и коррекция гипергомоцистеинемии при сахарном диабете 2 типа. Автореф. дисс... канд. мед. наук. Барнаул, 2003, 22 с.
10. Сапина А.И. Влияние адгезивных и острофазных белков плазмы на течение и прогноз острого коронарного синдрома. Авторф. дисс... канд. мед. наук. М.;2003. 21.
11. Сидоренко Г.И., Мойсенок А.Г., Колядко М. Г. и др.Роль гомоцистеина в тромбо- и атерогенезе. Возможности и перспективы витаминной коррекции. Кардиология. 2001; 3: 56-61.
12. Сулодексид. Механизмы действия и опыт клинического применения. Под ред. А.М. Светухина, З.С. Баркагана. М.; 2000: 118.
13. Шмелева В.М. Гипергомоцистеинемия и тромбоз.Тромбоз, гемостаз и реология. 2000; 4: 26-29.
14. Шустов С.В. Контролируемое клиническое исследование эффективности и безопасности сулодексида у больных с периферической окклюзивной артериопатией. В кн.: Сулодексид. Ред. А.М. Светухин, З.С Баркаган. М.; 2000: 76-88.
15. Albert M.A., Danielson E., Rifai N. et al. Effect of statin therapy on C-reactive protein levels: the pravastatin inflammation (CRP evalution (RPINCE)): a rand omized trial and cohort study JAMA. 2001; 286: 4-70.
16. Anderson T.G. Assessment and treatment of endothelial dysfunction in humans. J. Amer. Coll. Cardiol., 1999; 34; 631-637.
17. Berkowitz S.D., Marder V.J., Kosutic Y., Bauchman R.A. Oral heparin administration with a novel drug delivery agent (SNAC). J. Thromb. Haemost. 2003; 1 (9):1914-1919.
18. Bizzozero J. On a new blood particle and its role in thrombosis and blood coagulation. Virchows Arch. Pathol. Anat. Physiol. Klin. Med. 1882; 90: 261-332.
19. Bonetti P.O., Lerman L.O., Lerman A. Endothelial dys function: a marker of atherosclerotic risk. Atheroscler.Thromb. Vase. Biol. 2003; 23: 168-175.
20. Carais P., Alberto M.F., Gennari L.C et al. Antiphospholipid antibodies and hyperhomocysteinemia response to therapy with folic acid. J. Thromb. Haemost. 2003; Abstr. PO 421 (Poster).
21. Clarke R., Stansbie D. Assessment of homocysteine as a cardiovascular risk factor in clinical practice. Am. Clin. Biochem. 2001; 38: 624-632.
22. Condorelli M., Ogiariello M., Dagianati A. et al. IPO-V2: A prospective, multicenter, randomized, comparative, clinical investigation of the effects of sulodexide in preventing cardiovascular accidents after acute myocardial infarction. J. Amer. Coll. Cardiol. 1994; 23 (1): 27-34.
23. Crowder J.E., Cohn J.B., Savitsky J.P. et al. Efficacy and safety of pentoxyfyllin in heriatric patients with intermittent claudication. Angiolgy. 1989; 40: 795-802.
24. Da vies M.J. Stability and instability: two faces of coronary atherosclerosis. Circulation. 1996; 94:2013-2020.
25. Esmon C.T. New mechanisms for vascular control of inflammation mediated by natural anticoagulant proteins.J. Exp. Med. 2002; 196: 561-564.

26. Esmon C.T. Inflammation and thrombosis. J. Thromb.Haemost. 2003; 1 (7): 1343-1348.

27. Frenette P.S., Wagner D.D. Adhesion molecules - Part I and Part II. New Engl. J. Med. 1996; 334: 1526-1529; 1996; 335: 43-45.

28. Fuster V., Corti R., Fayad Z.A. et al. Integration of vascular biology and magnetic resonance imaging in the understanding of atherothrombotic and acute coronary syndromes. J. Thromb. Haemost. 2003; 1 (7): 1410-1421.

29. Galley P., Thiollet M. A double-blind, placebo-controlled trial of a new veno-active flavonoid fraction in the treatment of symptomatic capillary fragility. Int. Angi-01.1993; 12 (1): 69-72.

30. Hans J., Corti R., Hutter R. et al. The interplay between inflammation and thrombosis in atherosclerosis. Acute Coronary Syndromes. 2002; 4: 71-78.

31. Haverkate F., Thompson S.G., Pyke S.D. et al. Production of C-reactive protein and risk of coronary events in stable and unstable angina. Lancet. 1997; 349: 462-466.

32. Hermander-Perera O., Perez-Sala D., Navarro-Antolin J. ct al. Effects of the 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coA re-ductase inhibitors, atorvastatin and simvastatin, on the expression of endothelin-1 and endothelial nitric oxide synthase in vascular endothelial cells. J. Clin. Invest. 1998; 101: 2711-2719.

33. Heverkate F., Thompson S.G., Pyke S.D. et al. Production of C-reative protein and risk of coronary events in stable and unstable angina. European Concerted Action on Thrombosis and disabilities Angina Pectoris Study Group. Lancet. 1997; 349: 462-466.

34. Jialal I., Stein D., Balis D. et al. Effect of hydroxyme-thyl glutarie coenzyme A reductase inhibitor therapy on high sensitive C-reactive protein levels. Circulation. 2001; 103: 1933-1935.

35. Kocnig W., Sund M., Frohlich M. et al. C-reactive protein, a sensitive marker of inflammation, predict future risk of coronary heart disease in initially healthy middle-aged men. Results from the MONICA Augsburg Cohort Study, 1984-97. Circulation. 1999; 99: 237-242.

36. Koh K.K. Effects of statins on vascular wall: vasomotor function, inflammation, and plaque stability. Cardivasc.Res. 2000; 47: 648-657.

37. Korthuis R.J., Gute D.C. Adhesion molecule expression in microvascular dysfunction: activity of a micronized purified flavonoid fraction. J. Vase. Res. 1999; 36; (Suppl. 1): 15-23.

38. Lancer P., Topol E.J., Eds. Pan Vascular Medicine. In tegrated Clinical Management. Springer Verlag, Berlin c. a. 2002. 1941 p.

39. Libby P. Current concepts of the pathogenesis of the acute coronary syndromes. Circulation., 2001; 104: 365-372.

40. Liuzzo G., Biasucci L.M., Gallimore J.R. et al. The prognostic value of C-reactive protein and serum amyloid A protein in severe unstable angina. New Engl. J. V Med. 1994; 331: 417-424.

41. Malinovv M.R., Rang S.S., Taylor L.M. et al. Prevalence of hyperhomocysteinemia in patients with peripheral occlusive disease. Circulation. 1989; 79: 1180-1188.

42. Morrow D.A., Rifai D., Antman E.M. et al. C-reactive protein is a patent predictor of acute coronary syndromes. J. Amer. Coll. Cardiol. 1998; 31: 1460-1465.

43. Parodi F.A., Cataldi L. Sulodexide activity in peripheral vascular diseases of diabetic patients. Gerontol. 1985; 33: 237-242.

44. Ridker P.M., Cushman M., Stampfer M.J. et al. Plasma concentration of C-reactive protein and risk of developing peripheral vascular disease. Circulation. 1998; 97:» 425-428.

45. Ridker P.M. Role of inflammaton in the developmens of atherosclerosis. Europ. Heart J. 2000; 2 (Suppl. 01):57-59.

46. Ridker P.M., Rifai N., Stampfer M.J. et al. Plasma concentration of interleukin-6 and the risk of future myocardial infarction among apparently healthy men. Circulation. 2000; 101: 1767-1772.

47. Ridker P.M., Rifai N., Clearfield M. et al. Air-Force /Texas Coronary Atherosclerosis Prevention Study Investigators. Measurement of C-reactive protein for targeting of statin therapy in the primary prevention of acute coronary events. New Engl. J. Med. 2001; 344: 1959-1965.

48. Ridker P.M. High-sensitive C-reative protein. Circula tion. 2001; 103: 1837-1818.

49. Rosenson R.S., Tangey E.C., Casecy L.C. Inhibition of proinflammatory cytokine production by pravastatin.Lancet. 1999; 353: 983-984.

50. Ross R. Atherosclerosis — an inflammatory disease. New Engl. J. Med. 1999; 340: 115-126.

51. Ruggeri Z.M. Von Willebrand factor, platelets and endothelial cell interaction. J. Thromb.Haemost. 2003; 1 (7): 1335-1342.

52. Scandinavian Simvastatin Survival Study (YS). Randomised trial of cholesterol lowering in 4444 patients with coronary heart disease. Lancet. 1994; 344:1383-1389.

53. Schachinger V., Zeiher A.M. Coronary artery

disease and endothelial function. In: PanVascular medicine.Eds. P. Lancer, E.J. Tonol; Springer Ver., Bertin e. a.,2002. 887-912.

54. Seeger H., Mueck A.D., Lippert T.H. Fluvastatin increases prostacyclin and decreases endothelin production by human umbilical vein endothelial cells. Int. J. Pharmacol. Ther. 2000; 38: 270-272.

55. Seghatshan M.G., Samama M.M., Hecker S.P., Eds.Hypercoagulable states. Fundamental aspects, acquired disorders and congenital Thrombophilia. CRC Press, Boca Raton e. a., 1996. 462.

56. Shah P.K. New insieghts into the pathogenesis and prevention of acute coronary syndromes. Amer. J. Cardiol.1997; 79: 17-23.

57. Shoab S.S., Porter J., Scurr Y.H. et al. Endothelial activation response to oral micronized flavonoid therapy in patients with chronic venous disease — a prospective study. Europ. J. Vase. Endovasc. Surg. 1999; 17 (4): 313-318.

58. Shoab S.S., Porter J.B., Scurr J.H. et al. Effect of oral micromized purified flavonoid fraction treatment on leukocyte adhesion molecule expression in patients with chronic venous disease — a pilot study. J. Vase. Surg.2000; 31 (3): 456-461.

59. Uchiba M., Okajama K. Antithrombin III prevents LPS-induced vascular injury: novel biological activity of AT HI.Thromb. Haemost. 1997; 23: 583-590.

60. Undas A., Celinska-Lirwenhoff M., Kaczor M., Musial J.New nonlipid effects of statin and their clinical relevance in cardiovascular disease. Thromb. Haemost.2004; 91 (6): 1065-1077.

61. Utratova J., Mayer J., Elbi L. et al. Experience with the preparation Sulodexide (VesselDue F) in diabetics with ischemic affection of the lower extremities. Vnitr. Lek. 1993; 39 (6): 575-580.

62. Virchow R. Gesammelte Abhandlungen zur Wissenshaftlichen Medicin. Frankfurt, Meidinger, 1856.

63. Volpato S., Guralnik J.M., Ferrucci L. et al. Cardiovas cular disease, nterleukin-6, and risk of mortality in older women: The Womenrs health and Aging Study. Circulation. 2001; 103: 947-953.

64. Wassmann S., Laufs U., Mueller K. et al. Cellular anti-oxidant effects of atorvastatin in vitro and in vivo. Arterioscler. Thromb. Vase. Biol. 2002; 105: 933-938.

# ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

# Общие закономерности гемостатических реакций на однократные стрессорные воздействия

**И. И. Шахматов[1,2], В. М. Вдовин[1,2], В. И. Киселёв[1,2]**

**[1] – Кафедра нормальной физиологии (зав. – проф., чл.-корр. РАМН В. И. Киселёв) ГБОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет Минздравсоцразвития Российской Федерации», г. Барнаул**

**[2] – Алтайский филиал УРАМН НИИ физиологии СО РАМН (дир. – проф., чл.-корр. РАМН В.И. Киселёв), Барнаул**

## Введение

В процессе жизнедеятельности организм подвергается постоянному воздействию различных по своей природе стрессирующих факторов: психоэмоциональные и физические нагрузки, иммобилизация, варианты гипоксического воздействия и т.д. [1]. При этом в развитие адаптивных реакций вовлекаются различные органы и системы, в том числе регулирующие агрегатное состояние крови и её свёртываемость [4; 6; 9; 11]. Целью настоящего исследования явилось изучение реакций со стороны системы плазменного и тромбоцитарного гемостаза при однократном воздействии различных по своей природе факторов, не выходящих за рамки эустресса.

## Материал и методы исследования

Исследования выполнены на 128 крысах линии Wistar в ходе 5 серий экспериментов. Однократная физическая нагрузка моделировалась в виде навязанного бега в тредбане в течение 30 минут со скоростью 28–30 м/мин. Иммобилизация достигалась помещением крыс на 30 минут в свободно вентилируемые прозрачные камеры с фиксированным объемом (V=375 мл) и площадью (60 см$^2$). Воздействие гиперкапнической гипоксии исследовалось путем помещения крыс на 20 минут в камеры со следующей газовой средой: $O_2$ — 14–15%, $CO_2$ — 5–6%. Психоэмоциональное стрессорное воздействие моделировалось в виде одновременного помещения животных на 30 минут в общую вентилируемую камеру площадью 0,5 см$^2$ на 1 г массы тела одного животного при норме не менее 2 см$^2$. Гипоксическая гипоксия исследовалась при помещении крыс на 30 минут в барокамеру, в которой моделировался подъем на высоту 5500 м над уровнем моря (соответствует газовой среде при нормальном атмосферном давлении $O^2$, равном 12–14% и $CO^2$ — 0,01%).

Использование крыс в экспериментах осуществляли в соответствии с Европейской конвенцией и директивами по охране позвоночных животных, используемых в эксперименте [10]. Кровь для исследования забиралась сразу по завершении последнего воздействия у предварительно наркотизированных внутрибрюшинно тиопенталом натрия крыс (40–50 мг/кг массы)

[3] из печеночного синуса. Получение образцов плазмы крови и исследование гемостаза осуществлялось в соответствии с рекомендациями З. С. Баркагана и А. П. Момота [2; 5; 8]. Умерщвление наркотизированных животных осуществлялось методом цервикальной дислокации [7]. Оценка показателей гемостаза производилась с помощью методик, позволяющих исследовать состояние тромбоцитарного звена гемостаза, внутренний и внешний путь активации коагуляционного гемостаза, конечный этап образования фибринового сгустка, состояние антикоагулянтного звена гемостаза, а также фибринолитической системы [2; 5; 8].

Контролем служили показатели гемостаза, полученные у контрольной группы крыс (n=70).

Статистическая обработка проводилась с учетом распределения признаков в группах с использованием критерия Шапиро-Уилки. В зависимости от распределения применяли t-критерий Стьюдента для неравных дисперсий или непараметрический U-критерий Манна-Уитни. Данные представлены в виде X±m, где X — среднее арифметическое в выборочной совокупности, m — стандартная ошибка средней арифметической.

## Результаты и их обсуждение

В результате экспериментов установлено, что при воздействии трёх из пяти стрессорных воздействий (однократная физическая нагрузка, иммобилизация и гиперкапническая гипоксия) регистрировалась стандартная однотипная реакция со стороны плазменного гемостаза (табл. 1). Это проявлялось в активации контактной фазы свёртывания (прежде всего, по данным наиболее чувствительного силиконового времени и, в меньшей степени, — каолинового времени свёртывания и ИДКА (индекса диапазона контактной активации). Внешний путь активации плазменного гемостаза также во всех случаях активировался (по данным протромбинового времени). Также было обнаружено угнетение конечного этапа свертывания крови при увеличении содержания фибриногена в плазме крови. Кроме того, наблюдалось некоторое увеличение антикоагулянтной и, в большей степени, фибринолитической активности плазмы крови.

Со стороны тромбоцитарного гемостаза в двух случаях из трёх выявлялась активация агрегационной функции тромбоцитов.

В оставшихся двух сериях экспериментов (однократное психоэмоциональное стрессорное воздействие и воздействие гипоксической гипоксии) также регистрировались однотипные изменения со стороны системы гемостаза (табл.). При этом агрегационная функция тромбоцитов оставалась на прежнем уровне. Исследование коагуляционного звена гемостаза выявляло активацию контактных факторов свертывания. При этом была обнаружена активация и конечного этапа свертывания крови. Однако некоторое повышение коагуляционного потенциала плазмы крови на всех уровнях каскада не сопровождалось образованием в кровеносном русле конечного продукта свертывания — фибрина, о чём свидетельствовал низкий уровень растворимых фибрин-мономерных комплексов и содержание фибриногена в плазме крови, остававшееся на прежнем уровне. Кроме того, при данных видах стрессорного воздействия внешний путь активации гемостаза оставался не вовлечённым в процесс. Со стороны противосвертывающих факторов плазмы крови также регистрировалось сохранение достаточных резервов при незначительном снижении уровня антитромбина III. Фибринолитическая система плазмы крови при данном виде реакции организма на стрессирующие воздействия не отреагировала изменением уровня своей активности.

Таким образом, исследование состояния системы гемостаза при различных вариантах однократных кратковременных стрессирующих воздействий выявило ряд закономерностей.

Так, в ходе исследований обнаружено, что наиболее универсальной реакцией системы гемостаза на однократное кратковременное стрессорное воздействие является активация как тромбоцитарного, так и плазменного гемостаза. При этом со стороны последнего наблюдается сочетанное увеличение активности свертывающей, противосвертывающей и фибринолитической систем плазмы крови. Такие изменения в системе гемостаза в ответ на однократное воздействие стрессора можно расценивать как одно из звеньев реакции срочной адаптации организма, повышающей предуготовленность системы к остановке кровотечения и охарактеризовать как «эустресс».

При втором варианте реагирования систе-

мы гемостаза на стрессорные воздействия, несмотря на активацию внутреннего пути свёртывания, содружественной реакции (активации) со стороны тромбоцитарного гемостаза, внешнего пути коагуляции, а также противосвертывающей и фибринолитической систем плазмы крови не наблюдается. Обнаруженный факт может быть обусловлен недостаточной силой, либо длительностью стрессирующего воздействия [1; 4; 6; 11]), при котором запускаются лишь начальные этапы активации системы гемостаза (прежде всего её контактная фаза, наиболее чувствительная к выбросу адреналина в кровоток [2; 5; 6; 8]), не вовлекающие в процесс срочной адаптации противосвертывающую и фибринолитическую системы плазмы крови, уравновешивающие интегративное состояние системы.

## Выводы

1. Система гемостаза вовлекается в формирование генерализованной адаптивной реакции организма в ответ на воздействие лишь при достижении стрессором определенного порогового уровня по его силе, либо длительности.

2. Наиболее чувствительным звеном в системе является контактная фаза активации плазменного гемостаза.

3. Противосвертывающая и фибринолитическая системы активируются лишь при воздействии на организм более значимого по своим параметрам стрессора, выступая в качестве нейтрализаторов, устраняющих дисбаланс в системе гемостаза при более выраженной активации плазменных и тромбоцитарных факторов свёртывания для предотвращения генерализации тромбиногенеза и его последствий.

4. Исходя из выявленных закономерностей, регистрируемых со стороны системы гемостаза в ответ на действие достаточно широкого спектра однократных кратковременных стрессорных воздействий, можно предположить, что изменения, зафиксированные при этом, носят не специфический, а универсальный адаптивный характер.

Таблица 1.

**Коагулограмма крыс в ответ на однократные кратковременные стрессирующие воздействия (X±m)**

| Методы исследования | Контроль (n=70) | Физическая нагрузка (n=12) | Иммобилизация (n=11) | Гиперкапническая гипоксия (n=15) | Психоэмоциональный стресс (n=10) | Гипобарическая гипоксия (n=10) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Индуцированная агрегация тромбоцитов, с | 21,7±0,5* | 15,5±1,1* p<0,001 | 12,8±0,4 p<0,001 | 14,3±2,9 p<0,02 | 22,7±0,7 p>0,05 | 15,3±0,6 p<0,001 |
| Силиконовое время, с | 220,4±5,7* | 191,9±7,5* p<0,05 | 188,9±10,5 p<0,05 | 152,0±11,4 p<0,001 | 192,8±4,3 p<0,05 | 160,8±13,3 p<0,001 |
| Каолиновое время, с | 84,1±2,2* | 82,1±3,3 p>0,05 | 77,5±2,9 p>0,05 | 67,9±3,8 p<0,002 | 85,9±1,3 p>0,05 | 67,0±4,1 p<0,01 |
| ИДКА, % | 60,7±1,2* | 56,5±2,4 p>0,05 | 58,2±1,9 p>0,05 | 51,3±4,5 p<0,05 | 55,2±1,3 p<0,05 | 55,0±4,9 p>0,05 |
| АПТВ, с | 21,8±0,4 | 20,6±1,1* p>0,05 | 22,9±0,6 p>0,05 | 21,9±0,7 p>0,05 | 20,1±0,4* p>0,05 | 18,9±0,9 p<0,01 |
| Протромбиновое время, с | 13,9±0,2* | 13,0±0,2* p<0,05 | 12,5±0,3 p<0,01 | 12,7±0,3* p<0,01 | 13,4±0,3* p>0,05 | 15,1±0,8 p>0,05 |
| Тромбиновое время, с | 28,1±0,7* | 44,4±1,7 p<0,001 | 34,9±1,3 p<0,001 | 42,8±5,6* p<0,01 | 23,6±0,4 p<0,02 | 24,5±1,1 p<0,05 |
| Эхитоксовое время, с | 22,7±0,5 | 28,5±1,4 p<0,001 | 26,7±1,6 p<0,05 | 33,5±2,9* p<0,001 | 21,0±0,3 p<0,01 | 20,3±0,6 p<0,01 |
| РФМК, мг% | 3,3±0,1* | 3,5±0,3* p>0,05 | 3,5±0,4* p>0,05 | 3,7±0,3* p>0,05 | 3,1±0,1* p>0,05 | 3,2±0,2* p>0,05 |
| Содержание фибриногена, г/л | 1,77±0,07* | 2,48±0,23 p<0,01 | 2,55±0,20 p<0,001 | 2,29±0,19* p<0,02 | 1,94±0,11* p>0,05 | 2,09±0,23 p>0,05 |

| Методы исследования | Контроль (n=70) | Физическая нагрузка (n=12) | Иммобилизация (n=11) | Гиперкапническая гипоксия (n=15) | Психоэмоциональный стресс (n=10) | Гипобарическая гипоксия (n=10) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| АРП, % | 103,0±1,9 | 117,3±3,7 p<0,01 | 110,5±2,6 p<0,05 | 128,8±3,5 p<0,001 | 101,5±2,4 p>0,05 | 94,5±2,5 p<0,01 |
| Антитромбин III, % | 97,3±1,4 | 88,8±1,2 p<0,001 | 89,6±7,9 p>0,05 | 80,6±1,4 p<0,001 | 79,6±2,6 p<0,001 | 71,7±9,8 p<0,02 |
| Спонтанный эуглобулиновый фибринолиз, мин. | 332,1±14,0* | 205,3±18,1* p<0,001 | 216,8±20,6 p<0,001 | 169,0±24,4* p<0,001 | 309,7±32,3 p>0,05 | 392,5±58,4* p>0,05 |

***Примечание:*** ** — признаки, не подчиняющиеся нормальному распределению; n — число наблюдений; p — уровень статистической значимости различий показателей контрольной и опытной групп; ИДКА — индекс диапазона контактной активации; АПТВ — активированное парциальное тромбопластиновое время; РФМК — растворимые фибрин-мономерные комплексы; АРП — антикоагулянтный резерв плазмы.*

### *Список литературы*


1. Агаджанян Н.А. Учение о здоровье и проблемы адаптации / Н.А. Агаджанян, Р.М. Баевский, А.П. Береснева. - Ставрополь: Изд-во СГУ, 2000. - 203 с.
2. Баркаган З.С. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза / З.С. Баркаган, А.П. Момот. – М.: Ньюдиамед–АО, 2001. – 306 с.
3. Батрак Г.Е. Дозирование лекарственных средств экспериментальным животным / Г.Е. Батрак, А.Н. Кудрин. – М.: Медицина, 1979. – 168 с.
4. Голышенков С.П. Изменение функциональной активности тромбоцитов под влиянием повторной физической нагрузки / С.П. Голышенков, Н.А. Мельникова, М.Р. Тайрова // Физиология человека. – 2005. - Т. 31, № 4. – С. 102-107.
5. Долгов В.В. Лабораторная диагностика нарушений гемостаза / В.В. Долгов, П.В. Свирин. - М.; Тверь: Триада, 2005. - 227 с.
6. Зубаиров Д.М. Молекулярные основы свертывания крови и тромбообразования. - Казань: Фэн, 2000. - 364 с.
7. Копаладзе Р.А. Методы эвтаназии экспериментальных животных – этика, эстетика, безопасность персонала / Р.А. Копаладзе // Успехи физиологических наук. – 2000. – Т. 31, № 3. – С. 79-90.
8. Момот А.П. Патология гемостаза / А.П. Момот. – СПб.: ФормаТ, 2006. – 221 с.
9. Blood hemostasis in exercise and training / M.S. El-Sayed et al. // Med. Sci. Sports Exerc. – 2000. - V. 32, №5. – P. 918-925.
10. Commission of the European Communities, 86/609/EEC, ISSN 03780 6978 (1986).
11. Mann K.G. Models of blood coagulation / K.G. Mann, K. Brummel–Ziedins, T. Orfeo // Blood Cells Mol. Dis. - 2006. - V. 36, №2. - P. 108–117.


### *Данные об авторах*


**Шахматов Игорь Ильич** — кандидат медицинских наук, доцент кафедры нормальной физиологии) ГБОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет Минздравсоцразвития Российской Федерации», г. Барнаул; (зав. кафедрой — член-корр. РАМН В. И. Киселёв, ректор — проф. В. М. Брюханов), г. Барнаул; старший научный сотрудник Алтайского филиала УРАМН НИИ физиологии СО РАМН (директор филиала — член-корр. РАМН В. И. Киселёв, директор головного НИИ — акад. РАМН В. А. Труфакин), г. Барнаул.

Адрес для переписки: 656038, г. Барнаул, пр. Ленина, 40,

ГОУ ВПО «АГМУ Росздрава». Кафедра нормальной физиологии. Шахматову И. И.

т/ф.: (385) 66-88-38; e-mail: standart@ab.ru (с пометкой Шахматову И. И.)

**Вдовин Вячеслав Михайлович** — кандидат медицинских наук, доцент кафедры нормальной физиологии) ГБОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет Минздравсоцразвития Российской Федерации», г. Барнаул;

(зав. кафедрой — член-корр. РАМН В. И. Киселёв, ректор — проф. В. М. Брюханов), г. Барнаул; старший научный сотрудник Алтайского филиала УРАМН НИИ физиологии СО РАМН (директор филиала — член-корр. РАМН В. И. Киселёв, директор головного НИИ — акад. РАМН В. А. Труфакин), г. Барнаул.

**Киселёв Валерий Иванович** — член-корреспондент РАМН, профессор, доктор медицинских наук, заведующий кафедрой нормальной физиологии ГБОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет Минздравсоцразвития Российской Федерации», директор Алтайского филиала УРАМН НИИ физиологии СО РАМН.

# Роль генетических полиморфизмов системы гемостаза у пациентов с хирургической реваскуляризацией головного мозга в формировании тромбофилического состояния

**Н. А. Воробьева[1], Н. Я. Шемякина[2]**
**[1] – Северный филиал ГНЦ Минздравсоцразвития РФ, Архангельск**
**[2] – Северный государственный медицинский университет, Архангельск**

На современном этапе развития клинической медицины существует обоснованное мнение о мультифакториальном характере наследственной предрасположенности и быстрому прогрессированию атеротромбоза. Это в свою очередь предполагает наличие у пациента нескольких генетических поломок (полиморфизмов), которые функционируют независимо друг от друга или могут потенцировать друг друга [1]. В связи с этим, по мнению отдельных авторов целесообразно проведение молекулярно-генетическое обследование пациента как уже со свершившимся тромбозом, так и его ближайших родственников [1, 2]. По нашему мнению наличие генетических полиморфизмов системы гемостаза может повлиять как на возникновение интраоперационных осложнений, так и в целом на исход оперативного лечения у пациентов с ишемической болезнью головного мозга.

Целью настоящей раздела исследования явилось изучение структуры отдельных полиморфизмов генов системы гемостаза (FI 455 G/A, FII 20210 G/A, FV 1691 G/A, MTHFR 677 C/T, PAI-1 675 4G/5G, GpIIIa PIA1/A2) у пациентов с хирургической реваскуляризации головного мозга и оценка возможного влияния указанных полиморфизмов на риск развития острого нарушения мозгового кровообращения.

Материалы и методы. У 117 пациентов с ишемической болезнью головного мозга на фоне хирургической реваскуляризации головного мозга было выполнено молекулярно-генетическое исследования методом ПЦР диагностики на предмет наличия наследственно обусловленного тромбофилического состояния. Генетическое исследование проведено в РОСНИИ гематологии и трансфузиологии г. Санкт-Петербурга в биохимической лаборатории (зав. лабораторией — д.б.н. С. И. Капустин). В качестве материала для исследования использовали образцы геномной ДНК, полученной из лейкоцитов периферической крови по методу

Miller S. A. и соавт. (1988). Стабилизация крови осуществлялась раствором 4%-го ЭДТА, замораживание и хранение образца до исследования проводилось при температуре –50°С. Дизайн исследования был одобрен локальным этическим комитетом СГМУ.

Результаты исследования. Результаты нашего исследования показали, что в исследованной выборке пациентов с ишемической болезнью головного мозга на фоне мультифокального атеротромбоза не было выявлено гомозиготных мутаций в общепринятых известных протромботических генах FV 1691 G/A и FII 20210 G/A (таблица 1).

Таблица 1.

**Распределение генетических полиморфизмов системы гемостаза у пациентов с ишемической болезнью головного мозга**

| Генетические полиморфизмы | Генотип | Распространенность, абс | Распространенность, % |
|---|---|---|---|
| Фактор I<br>–455 G/A | –455 (G/G)<br>**–455 (G/A)**<br>**–455 (A/A)** | 71<br>41<br>5 | 60,7<br>5,0<br>4,3 |
| Фактор II<br>20210 G/A | 20210 (G/G)<br>**20210 (G/A)**<br>20210 (A/A) | 111<br>6<br>0 | 94,9<br>5,1<br>0 |
| Фактор V<br>1691 G/A | 1691 (G/G)<br>**1691 (G/A)**<br>**1691 (A/A)** | 108<br>9<br>0 | 92,3<br>7,7<br>0 |
| MTHFR<br>677 C/T | 677 (C/C)<br>677 (C/T)<br>**677 (T/T)** | 57<br>49<br>11 | 48,7<br>41,9<br>9,4 |
| PAI-1<br>–675 4G/5G | **–675 4G/4G**<br>–675 4G/5G<br>–675 5G/5G | 37<br>5<br>25 | 31,6<br>47,0<br>21,4 |
| GpIIIa<br>PIA1/A2 | A1/A1<br>**A1/A2**<br>A2/A2 | 83<br>31<br>3 | 70,9<br>26,5<br>2,6 |
| APO E<br>(n=50) | E3/E3<br>**E3/E4**<br>E2/E3<br>**E2/E4** | 32<br>12<br>4<br>2 | 64,0<br>24,0<br>8,0<br>2,1 |

***Примечание:*** *жирным шрифтом выделены генотипы, являющиеся потенциальными факторами риска тромбоза.*

При этом было выявлено, что значительное распространение протромботических полиморфизмов было зарегистрировано в генах MTHFR, PAI-I, APOE и GpIIIa PIA1, что ассоциируется с риском развития атеротромбоза, метаболического синдрома и повышения функциональной активности тромбоцитарного звена гемостаза. И, напротив, так называемые «венозные» полиморфизмы присутствовали в единичных случаях, так гетерозиготное состояние FV 1691 G/A отмечено у 9 пациентов (7,7%), а в гене FII 20210 G/A — у 6 пациентов (5,1%). При этом гомозиготных аллелей в данных протромботических «венозных» мутациях в нашем исследовании выявлено не было.

Нами проведен анализ частотного распределения отдельных генетических полиморфизмов системы гемостаза в зависимости от наличия у исследуемых пациентов в анамнезе острого нарушения мозгового кровообращения (таблица 2). Было выявлено, что у пациентов, перенесших острое нарушение мозгового кровообращения, чаще по сравнению с пациентами, не имевшими в анамнезе острых эпизодов де-

компенсации церебрального кровообращения (ОНМК) на момента начала наблюдения, встречалось гетерозиготное носительство в гене фактора FI 455G/F (40,2% против 16,0%, p=0,024) и в 5,4% случаев была выявлена гомозиготная мутация этого гена. В то время как у пациентов без острого нарушения мозгового кровообращения в анамнезе подобного полиморфизма выявлено вообще не было.

Анализ полученных результатов молекулярно-генетического анализа свидетельствует о том, что только в 21% случаев у обследованных нами пациентов с ИБГМ были выявлены одиночные или изолированные генетические полиморфизмы системы гемостаза, свидетельствующие о возможной наследственной детерминации к атеротромбозу и, как следствие, состоянию тромбофилии (рис. 1).

Таблица 2.

**Распределение генетических полиморфизмов системы гемостаза у пациентов с ишемической болезнью головного мозга в зависимости от наличия в анамнезе острого нарушения мозгового кровообращения**

| Полиморфизмы | | Группа с ОНМК в анамнезе (n=92) | Группа без ОНМК в анамнезе (n=25) | $\chi^2$ | p |
|---|---|---|---|---|---|
| Фактор I -455 G/A | –455 G/G<br>–455 G/A<br>–455 A/A | 50 (54,3%)<br>37 (40,2%)<br>5 (5,4%) | 21 (84,0%)<br>4 (16,0%)<br>0 (0%) | 7,497 | 0,024 |
| Фактор II 20210 G/A | 20210 G/G<br>20210 G/A<br>20120 A/A | 88 (95,7%)<br>4 (4,3%)<br>0 | 24 (96,0%)<br>1 (4,0%)<br>0 | 0,006 | 0,939 |
| Фактор V 1691 G/A | 1691 G/G<br>1691 G/A<br>1691 A/A | 85 (92,4%)<br>7 (7,6%)<br>0 | 23(92,0%)<br>2 (8,0%)<br>0 | 0,004 | 0,948 |
| MTHFR 677 C/T | 677 C/C<br>677 C/T<br>677 T/T | 42 (45,7%)<br>39 (42,4%)<br>11 (9,4%) | 15 (60,0%)<br>10 (40,0%)<br>0 | 3,847 | 0,146 |
| PAI-1 –675 4G/5G | –675 4G/4G<br>–675 4G/5G<br>–675 5G/5G | 28 (30,4%)<br>48 (52,2%)<br>16 (17,4%) | 9 (36,0%)<br>7 (28,0%)<br>9 (36,0%) | 5,822 | 0,054 |
| GpIIIa PIA1/A2 | A1/A1 A1/A2<br>A2/A2 | 62 (67,4%)<br>27 (29,3%)<br>3 (3,3%) | 21 (84,0%)<br>4 (16,0%)<br>0 | 2,901 | 0,234 |

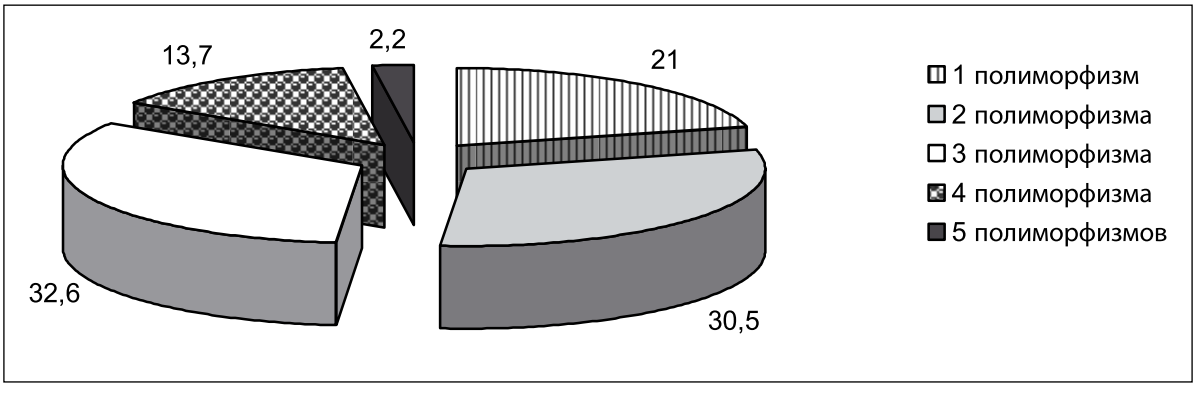


*Рис. 1. Сочетание генетических полиморфизмов системы гемостаза у пациентов с ИБГМ, %*

Чаще всего было отмечено сочетание 2-х (30,5%) и 3-х (32,6%) генетических полиморфизмов, носительство 4-х полиморфизмов было выявлено в 13,7% случаев. Проведенный корреляционный анализ полученных данных выявил среднюю достоверную связь между полиморфизмами в гене PAI-I и ApoE (r=0,538; p=0,038) у пациентов с ИБГМ, что свидетельствует о метаболической составляющей изучаемой нами патологии.

На следующем этапе работы нами был проведен кластерный анализ исследуемых генов с целью выявления степени близости изучаемых полиморфизмов (рис. 2).

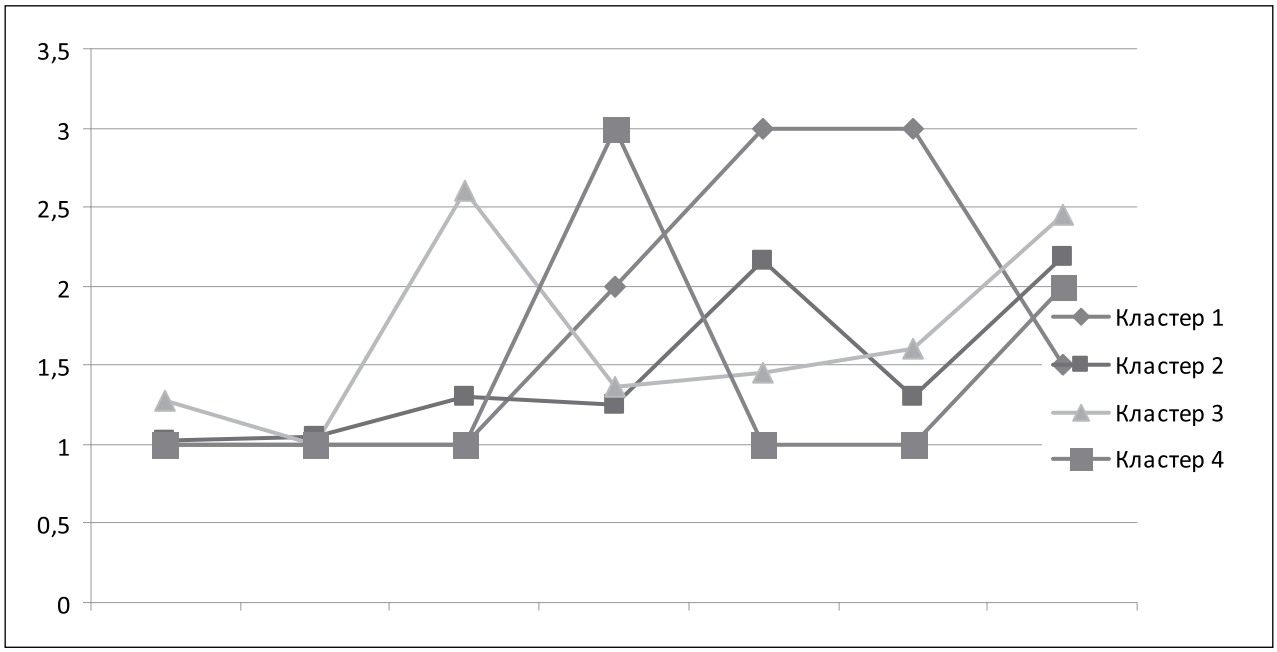


*Рис. 2. Кластерный анализ генетических полиморфизмов в выборке пациентов с ишемической болезнью головного мозга*

Известно, что переменные, включаемые в данный анализ, характеризуются однородными дисперсиями, что позволяет провести группировку путем последовательного объединения наиболее близких объектов в один кластер [3]. В предлагаемом методе расстояние между изучаемыми полиморфизмами внутри кластера измеряли методом Варда, который минимизирует внутрикластерный разброс и позволяет представить процесс последовательного объединения в виде дендрограммы [3]. Результат выполненной кластеризации демонстрирует группировку изучаемых полиморфизмов по механизму участия в протромботических процессах, т.е. в формировании тромбофилического состояния на фоне мультифокального атеротромбоза (рис. 2). Переменные, включенные в анализ, характеризовались однородными дисперсиями, что позволило провести группировку путем последовательного объединения наиболее близких объектов в один кластер. Результат кластеризации свидетельствовал о группировке изучаемых полиморфизмов по механизму участия в гемостатических процессах.

Проведенный статистический анализ представленного генетического материала методом кластеризации указывает на распределение изучаемых полиморфизмов системы гемостаза и их влияние на формирование протромботической — тромбофилической ситуации. На рис. 2 представлены четыре различные математические модели, описывающие различные сочетания генетических полиморфизмов системы гемостаза. Первый кластер был наиболее гомогенный и объединил гомозиготный полиморфизм генов PAI-1 (675 4G/5G), FI (455 G/A) и гетерозиготный полиморфизм ApoE. Немаловажно, что 72% пациентов, перенесших ОНМК в анамнезе принадлежали ко 2-му кластеру, объединяющему 5 вариантов генотипов, а именно MTHFR (677 C/T), PAI-1 (675 4G/5G), FI (455 G/A), GpIIIa (PIA1/A2) и ApoE. Как известно, данные генотипы могут быть отнесены в составляющую метаболического синдрома, который имеет значимое влияние

на процессы инициации и прогрессирования атеротромбоза. По данным литературы, указанные полиморфизмы ассоциируются с факторами повышенного метаболического риска [4]. Далее, 22% пациентов выборки с ОНМК в анамнезе принадлежали к 3-му кластеру, объединяющему 6 вариантов генотипов: MTHFR (677 C/T), PAI-1 (675 4G/5G), FI (455 G/A), GpIIIa (PIA1/A2), ApoE и FV 1691 G/A. Так, в этом кластере было отмечено наибольшая распространенность протромботических аллелей в генах PAI-I, MTHFR, APOE, объединенных в метаболическую составляющую тромбофилических состояний.

При проведении регрессионного анализа с использованием оптимальной шкалы нами было выявлено, что полиморфизм фибриногена является по данным нашего исследования независимым предиктором развития ОНМК ($R^2$=0,136; p=0,004), так ОШ для FI (455 G/A) – 4,41 (95% ДИ: 1,4 – 13,8; p=0,007). В связи с этим у пациентов, имеющих полиморфизм гена FI (455 G/A) были проанализированы различия в содержании фибриногена до и после оперативного лечения (таблица 3).

Таблица 3.

**Уровень фибриногена у пациентов с полиморфизмами в гене FI (455 G/A) ***

| Фибриноген, г/л | FI 455G/G | FI 455G/A | FI 455A/A | H (2) | p |
|---|---|---|---|---|---|
| Исходный до операции | 3,49 (3,45; 4,19) | 3,58 (3,49; 5,12) | 3,85 (3,54; 5,36) | 2,235 | 0,237 |
| 4–5 сутки после операции | 5,42 (4,41; 5,52) | 5,37 (4,56; 6,75) | 7,86 (6,12; 7,65) | 6,012 | 0,034 |

***Примечание:*** **Данные представлены в виде Me и интерквартильных рангов.*

Если до операции значимых различий в уровнях фибриногена у больных с различными полиморфизмами гена FI (455 G/A) выявлено не было (p=0,237), то после операции у больных, имевших гомозиготную мутацию данного гена зарегистрированы максимально высокие показатели фибриногена, а у больных, имевшие нормальный аллель гена FI , показатели фибриногена после операции были самыми низкими (p=0,034).

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Формирование наследственно-детерминированного тромбофилического фона существенно увеличивает риск протромботических событий особенно при проведении хирургической реваскуляризации патологически измененных брахеоцефальных артерий. В настоящее время проводятся многочисленные исследования по изучению различных генетических и приобретенных дефектов факторов свертывания крови и тромбоцитов, обусловливающие до 90% случаев тромбозов [5, 6].

В нашей работе было показано, что значительное распространение протромботических полиморфизмов системы гемостаза на фоне атеротромботического поражения БЦА было отмечено в генах MTHFR, PAI-I, APOE и GpIIIa PIA1, что ассоциируется с риском развития атеротромбоза. И напротив, так называемые «венозные» полиморфизмы присутствовали в единичных случаях, так гетерозиготное состояние FV 1691 G/A отмечено у 9 пациентов (7,7%), а в гене FII 20210 G/A — у 6 пациентов (5,1%).

Следует отметить, что одиночные генетические полиморфизмы в нашем исследовании были выявлены только у 21% наших пациентов. Чаще всего было отмечено сочетание 2-х (30,5%) и 3-х (32,6%) генетических полиморфизмов, а носительство 4-х полиморфизмов было выявлено в 13,7% случаев. Данные нашего исследования еще раз подтверждают гипотезу многофакторности наследственных тромбофилических состояний [54], так в большинстве случаев имело место сочетание различных генетических детерминант, что в свою очередь усиливало прокоагулянтную составляющую тромбофилического состояния.

По данным большинства специалистов именно сочетание протромботических генетических вариантов, их комбинации с различными факторами риска имеют решающее значение в формировании тромбофилического статуса [7, 8].

Нами была предпринята попытка оценить вклад генетических полиморфизмов компонентов системы гемостаза у пациентов с ИБГМ с осложнениями в виде церебральных инсультов. Так, наибольшее значение по нашему мнению могли иметь генетические полиморфизмы, имеющие отношение к формированию метаболического синдрома, а именно в генах MTHFR, PAI-I, APOE. Результаты нашей работы показали, что наибольшее распространение гомозиготных аллелей было отмечено в генах PAI-I –6754 G/4G (31,6%), что как раз подтверждает нашу рабочую гипотезу. Кроме того, метаанализ 9-ти исследований по принципу случай-контроль, проведенных в европейской популяции, показал более высокую частоту аллеля 4G в группе пациентов с мультифокальным атеромтробозом, причем максимальный риск развития сосудистых событий наблюдался в группах лиц молодого возраста [5].

Немаловажным результатом нашего исследования явилось выявление значимого носительства аллеля APOE E3/E4 (24%), свидетельствующее о возможности развития генетически детерминированной дислипидемии, являющей одним из важнейших факторов риска мультифокального атеротромбоза.

Таким образом, в проведенном нами исследовании типа «случай-контроль» получены данные о возможной детерминации отдельных вариантов системы гемостаза с риском возникновения ОНМК у пациентов с ИБГМ на фоне атеротромбоза БЦА, что подтверждается данными других отечественных ученых [1]. Так, нами было выявлено, что у пациентов с ОНМК в анамнезе чаще по сравнению с пациентами, не перенесшими ОНМК, встречалось гетерозиготное носительство в гене фактора FI 455G/F (40,2% против 16,0%) и в 5,4% случаев была выявлена гомозиготная мутация этого гена, в то время как у пациентов без ОНМК данного полиморфизма выявлено вообще не было. Данные результаты еще раз указывают на возможную наследственную детерминацию нарушений системы гемостаза при мультифокальном атеротромбозе, на обоснованность проведения многоцентровых эпидемиологических и популяционных исследований тромбофилических состояний на фоне мультифокального атетромбоза.

Проведенный нами анализ сочетания нескольких генетических полиморфизмов еще раз убедительно продемонстрировал мультигенность тромбофилического состояния, которое усугубляет течение атеротромботического процесса, формируя клиническую картину в зависимости от первичной локализации процесса. Сочетание трех полиморфизмов было отмечено у 31 (32,6%) пациента, при этом наибольшее значение в этом сочетании имели MTHFR (677 C/T), PAI-1 (675 4G/5G) и FI (455 G/A). Гетерозиготные формы истинных протромботических мутаций (в гене V Лейден) в нашей выборке пациентов с ИБГМ были выявлены в 7 случаях, при этом все они были не изолированными, т.е. имелось сочетание с другими полиморфизмами. Другая широко известная протромботическая мутация в гене F II 20210 G/A также была выявлена в гетерозиготном состоянии у 4-х пациентов.

Наибольшее значение по нашему мнению у пациентов с ИБГМ могли иметь генетические полиморфизмы, имеющие отношение к формированию метаболического синдрома как одного из факторов ИБГМ, а именно в генах MTHFR, PAI-I и APOE. Результаты нашей работы показали, что наибольшее распространение гомозиготных аллелей было отмечено в генах PAI-I –6754 G/4G (31,6%), что как раз подтверждает нашу рабочую гипотезу. Также немаловажным результатом исследования явилось значимое носительство аллеля APOE E3/E4 (24%), свидетельствующее о возможности развития генетически детерминированной дислипидемии, являющей одним из важнейших факторов риска мультифокального атеротромбоза с поражением БЦА.

При проведении регрессионного анализа с использованием оптимальной шкалы нами было показано, что полиморфизм в гене фибриногена является по данным нашего исследования независимым предиктором развития ОНМК у пациентов с ИБГМ ($R^2$=0,136; p=0,004), так ОШ для FI (455 G/A) –4,41 ( 95% ДИ: 1,4–13,8; p=0,007). Важным с нашей точки зрения является факт, что после операции у пациентов, имевших гомозиготную мутацию в гене фибриногена отмечены максимально высокие уровни фибриногена (p=0,034). Наши результаты согласуются с дан-

ными отдельных исследований, показывающих на усиление тромбогенного потенциала крови при атеротромботическом поражении БЦА проявляющегося виде активации плазменных факторов системы гемостаза, прежде всего, повышение содержания фибриногена [9, 10, 11]. В доступных для нас литературных источниках мы не нашли сведений о влиянии сочетания полиморфизмов ApoE и FI 455G/F на риск возникновения ОНМК при ИБГМ, что может являться новыми данными для нашей популяции пациентов с ИБГМ на фоне мультифокального атеротромбоза.

Наши данные подтверждают результаты исследования проведенного в когорте пациентов с мультифокальным атеротромбозом с поражением другого сосудистого бассейна, а именно — коронарных артерий, что демонстрирует общность изучаемой проблемы на кардиологов, терапевтов, неврологов. Так, в группе пациентов с ИБГМ, имевших гомозиготную мутацию в гене FI (455 G/A) также были зарегистрированы максимально высокие показатели уровня фибриногена (p=0,034), как и в группе пациентов с ИБС, что свидетельствует о значимом вкладе данного полиморфизма в формировании как протромботической ситуации, так и системного воспаления, формирующимся на фоне оперативного вмешательства. С практической точки зрения необходимо подчеркнуть, что присутствие данных генетических полиморфизмов статистически достоверно влияло на риск развития ОНМК у пациентов с ИБГМ после хирургической реваскуляризации.

Проведенный статистический анализ представленного генетического материала методом кластеризации указывает на распределение отдельных полиморфизмов и их влияние на формирование протромботической — тромбофилической ситуации. Так в нашем исследовании было получено 4 математических моделей (кластеров) данного патологического процесса. При этом следует выделить, что 72% пациентов, перенесших ОНМК в анамнезе, принадлежали ко 2-му кластеру, объединяющему 5 вариантов генотипов, а именно MTHFR (677 C/T), PAI-1 (675 4G/5G), FI (455 G/A), GpIIIa (PIA1/A2) и ApoE. Как известно, данные генотипы могут быть отнесены в составляющую метаболического синдрома, который имеет значимое влияние на процессы инициации и прогрессирования атеротромбоза. По данным литературы, указанные полиморфизмы ассоциируются с факторами повышенного метаболического риска [3].

Резюмируя результаты нашего исследования, была продемонстрирована возможная значимость ген-генных взаимодействий системы гемостаза в формировании тромбофилического статуса при ИБГМ, что еще раз убедительно демонстрирует целесообразность выявления генетических полиморфизмов системы гемостаза и внедрения методов молекулярной генетики в практическую медицину.

### *Список литературы*

1. Капустин С. И. Молекулярно-генетические аспекты патогенеза венозного тромбоэмболизма: автореф. дис. …д-ра биол. наук / С. И. Капустин. – СПб, 2007. – С. 298.

2. Воробьева Н.А. Наследственные тромбофилические состояния как фактор риска для здоровья населения Архангельской области /Н.А. Воробьева // Материалы Всероссийской конференции с международным участием «Биологические аспекты экологии человека». – Архангельск. - 2004. - Т. 1. - С. 94-97.

3. Супрядкина Т.В. Влияние гормонально-метаболических нарушений на результаты аортокоронарного шунтирования у больных с различными вариантами накопления и распределения жировой ткани: автореф. дис. … к.м.н. / Т.В. Супрядкина. – Архангельск, 2010. – С 56, 124 – 126.

4. Yang Z., Ming X.F. Recent advances in understanding endothelial dysfunction in atherosclerosis / Z.Yang, X.F. Ming // Clinical medicine and research. 2006. - 4 (1). – P. 53-65

5. Ельчанинов А.П. Наследственные и приобретенные факторы и терапия хронической ишемии мозга и молодых лиц: автореф. дис.…д-ра.м.н. / А. П. Ельчанинов. - СПб, 2002 – С.189 – 190.

6. Ельчанинов А.П., Капустин С.И. Генетические и приобретенные факторы риска тромбоза у лиц с дисциркуляторной энцефалопатией // Нейроиммунология: Материалы XI Всерос. конф. – СПб.,

2002. – С. 91– 93.

7. Di Napoli, M. Is Plasma Fibrinogen Useful in Evaluating Ischemic Stroke Patients?: Why, How, and When / M. Di Napoli, P, Singh // Stroke. 2009. - Vol. 40. - P. 1549 – 1552.

8. Lane D.A. Role of hemostatic gene polymorphisms in venous and arterial thrombotic disease / D.A.Lane, P.J.Grant // Blood. - 2000. – Vol. 95. – P. 1517-1532.

9. Шабалина А.А. Гемостаз и биохимические маркеры повреждения ткани мозга при атеротромботическом и лакунарном подтипах ишемического инсульта : автреф. дис. … к.м.н. /А.А. Шабалина. - Москва, 2009. - С. 133.

10. Yang Z., Ming X.F. Recent advances in understanding endothelial dysfunction in atherosclerosis / Z.Yang, X.F. Ming // Clinical medicine and research. 2006. - 4 (1). – P. 53-65.

11. Zoppo G. J. Hyperfibrinogenemia and functional outcome from acute ischemic stroke / G. J. del Zoppo, D. E. Levy, W. W. Wasiewski et al. // Stroke. 2009. - Vol. 40. - P. 1687.

# Гемостазиологический гомеостаз при фармакологическом прерывании беременности

**Н. А. Воробьева[1], С. Б. Неманова[2]**

**[1] – Северный филиал Гематологического научного центра Минздравсоцразвития РФ, Архангельск**

**[2] – Северный государственный медицинский университет, Архангельск**

Активное внедрение фармакологического аборта и постепенное замещение им традиционных методов хирургического прерывания беременности делает актуальным вопрос изучения состояния системы гемостаза у пациенток с медикаментозным методом прерывания беременности. Несмотря на многообразие преимуществ, метод не исключает риска развития кровотечения в ходе его проведения (от длительного, ухудшающего качество жизни пациентки до выраженного, требующего проведения неотложных мероприятий) [1–7]. В зарубежой литературе встречаются достаточно разноречивые, а подчас и противоречивые данные, характеризующих изменения ряда показателей системы крови при использовании аналогов антигестагенов и простагландинов [6–8]. В литературе также не найдено работ, производящих углубленную оценку состояния гомеостаза у женщин с медикаментозным прерыванием беременности.

Цель исследования — выявить особенности физиологических механизмов дизрегуляции системы гемостаза у здоровых женщин в условиях фармакологического прерывания беременности

Материалы и методы. Работа основана на проспективном клинико-лабораторном исследовании в период с 2006 по 2010 годы. В исследуемую группу были включены женщины репродуктивного возраста (n=65) с беременностью малого срока (до 42 дней аменореи включительно), пожелавшим прервать беременность с использованием фармакологического аборта. В качестве медикаментозного прерывания беременности в малом сроке были использованы препараты из фармакологических групп антигестагенов и простагландинов. Медикаментозное прерывание проводилось в лечебно-профилактических учреждениях г. Архангельска с использованием препаратов RU-486 и мизопростол. Работа была выполнена при поддержке гранта №03-30-07Администрации Архангельской области «Молодые ученые поморья» согласно приоритетным направлениям развития науки в Архангельской области.

Контрольные исследования с определением референтных параметров системы гемоста-

за были выполнены однократно на 58 здоровых женщин в возрасте от 18 до 45 лет. Дизайн исследования был одобрен локальным Этическим комитетом Северного государственного медицинского университета. У всех исследуемых женщин было получено информированное согласие для участия в исследовании.

В рамках клинического проспективного исследования проводилось развернутое обследование системы гемостаза на автоматическом анализаторе гемостаза «STA Compact», фирмы «Roshe» (Франция) с использованием реактивов фирмы "Diagnostica Stago" (Франция) на базе Лаборатории гемостаза и атеротромбоза Северного филиала ГНЦ Минздравсоцразвития РФ. Исследование гемостазиологических параметров проводилось при включении в исследование и к 10-м суткам фармакологического аборта и отражало состояние всех основных звеньев системы гемостаза.

Методы лабораторного исследования включали в себя: определение количества тромбоцитов; функциональная активность тромбоцитов определена по результатам экспресс-метода визуальной оценки агрегации тромбоцитов в богатой тромбоцитами плазме по Шитиковой А.С. с использованием двух индукторов агрегации АДФ и адреналина в концентрации 0,5х10-4 М/л и 0,015%; активированноое частичное тромбопластиновое время (АЧТВ); международное нормализованное отношение (МНО) с Техпластином-ST с ISI 1,2; фибриногена по Клаусу; тромбиновое время; активность фактора VIII, фактора Виллебранда плазминогена, α-2-антиплазмина; антитромбина III; протеина С; уровня Д-димеров; эуглобиновой фракции плазмы при стимуляции стрептокиназой. Забор крови для исследования системы гемостаза осуществлялся согласно общепринятым правилам [9] в стандартные гемостазиологические вакутейнеры «Vacuette» (Gneiner bio-one).

Статистическая обработка результатов выполнялась с использованием програмного обеспечения SPSS 15.0, MedCalc.

Результаты исследования. Исходя из цели и задач нашего исследования был проведен анализ основных показателей системы гемостаза у здоровых женщин (n=64) в сроке аменореи до 42 суток при проведении медикаментозного прерывания беременности с использованием препаратов RU-486 и мизопростола. Показатели состояния системы гемостаза оценивались у каждой женщины трехкратно — накануне проведения медикаментозного аборта, на 3–4 сутки и на 10-е сутки фармакологического прерывания беременности.

Исходное состояние первичного звена системы гемостаза перед проведением фармакологического прерывания беременности свидетельствовало об усилении функциональной активности тромбоцитов, при этом средние значения агрегационной активности тромбоцитов с АДФ и адреналином находились на верхней границе нормы или незначительно превышали ее (табл. 1).

Так, количество тромбоцитов к 3–4-м суткам фармакологического аборта достоверно не изменялось (p=0,899), однако было отмечено изменение в их функциональной активности. При этом было выявлено достоверное (p<0,01) усиление агрегационной активности тромбоцитов при индукции АДФ и адреналином к 3–4-м суткам медикаментозного аборта в виде укорочения времени агрегации на 11,76% при индукции АДФ и на 7,89% при индукции адреналином по сравнению с исходными значениями с последующим статистические незначимым (p>0,05) ее ослаблением к 10-м суткам (табл. 1).

В динамике медикаментозного прерывания беременности отмечалась достоверное снижение в пределах референтных значений активности фактора Виллебранта, отражающего функциональную активность эндотелия, (p для тренда =0,037) (табл. 1).

Анализ средних значений основных показателей коагуляционного звена системы гемостаза перед проведением фармакологического аборта показал, что они не выходили за пределы физиологической нормы для данной возрастной группы женщин, за исключением показателя АЧТВ, находившегося в пределах верхней границы нормы (табл. 2).

В результате анализа полученных данных нами были выявлены определенные закономерности в изменении ряда показателей коагуляционного звена системы гемостаза, которые отражены в таблице 2. Так, в исследовании нами было выявлено усиление в пределах физиологических значений прокоагулянтного потенциала крови по данным показателя МНО. В то же время, в среднем, абсолютные значения показателя

Таблица 1.

**Динамика показателей сосудисто-тромбоцитарного звена системы гемостаза при медикаментозном прерывании беременности**

| Показатель | Исходный показатель | 3–4-е сутки | 10-е сутки | p |
|---|---|---|---|---|
| Количество тромбоцитов, $10^9$/л (n=62) | 224,5 (197,25–256,0) | 226,5 (199,0–264,0) | – | 0,899 |
| Агрегационная активность тромбоцитов с АДФ, сек (n=55) | 19,0 (16,0–23,0) | 17,0 (14,0–19,0) | 18,0 (15,0–19,0) | 0,004a |
| Агрегационная активность тромбоцитов с адреналином, сек (n=55) | 38,0 (34,0–42,0) | 35,0 (29,0–39,0) | 38,0 (30,0–40,0) | 0,009a |
| Фактор Виллебранта, % (n=55) | 90,0 (66,0–108,0) | 85,0 (66,0–101,0) | 81,0 (65,0–100,0) | 0,037d |

***Примечание:*** *Количественные признаки представлены как медиана (первый и третий квартиль). Различия значимы:*
*a — между уровнем показателя до аборта и его уровнем к III-IV суткам аборта*
*d — различия при проведении попарных сравнений (p для тренда).*

Таблица 2.

**Динамика показателей коагуляционного звена системы гемостаза при фармакологическом аборте (n=55)**

| Показатель | Исходный показатель | 3–4-е сутки | 10-е сутки | p |
|---|---|---|---|---|
| Фибриноген, г/л | 2,7 (2,4–3,1) | 2,6 (2,1–3,1) | 2,5 (2,0–3,0) | 0,003 a,b |
| АЧТВ, сек | 42,0 (39,0–47,0) | 41,0 (37,0–48,0) | 43,0 (39,0–49,0) | 0,217 |
| ПТИ, % | 89,0 (79,0–98,0) | 91,0 (80,0–98,0) | 92,0 (83,0–102,0) | 0,440 |
| МНО, ед | 1,08 (1,01–1,16) | 1,07 (1,01–1,16) | 1,06 (0,99–1,14) | 0,036 d |
| Фактор VIII, % | 78,0 (48,0–124,0) | 63,0 (47,0–127,0) | 68,0 (43,0–114,0) | 0,006 b,c |
| Тромбиновое время, сек | 20,0 (17,0–22,0) | 20,0 (16,0–22,0) | 20,0 (17,0–21,0) | 0,968 |

***Примечание:*** *Количественные признаки представлены как медиана (первый и третий квартиль). Различия значимы:*
*a — между уровнем показателя до аборта и его уровнем к III–IV суткам аборта,*
*b — между уровнем показателя до аборта и его уровнем к X суткам аборта,*
*c — между уровнями показателя от III–IV к X суткам аборта,*
*d — различия при проведении попарных сравнений (p для тренда)*

МНО, не выходили за пределы физиологической нормы (табл. 2).

В то же время, нами выявлена тенденция к возрастанию к 3–4-м суткам фармакологического аборта средних значений показателя ПТИ. Данная тенденция сохранялась и к 10-м суткам фармакологического аборта ($p>0,05$).

Следует отметить, что при фармакологическом аборте происходило достоверное ($p<0,017$) снижение уровня фибриногена в динамике к 3–4-м и к 10-м суткам. Аналогичные изменения были выявлены и в динамике активности фак-

Таблица 3.

**Динамика показателей антикоагуляционного и фибринолитического звеньев системы гемостаза при фармакологическом аборте (n=55)**

| Показатель | Исходный показатель | 3–4-е сутки | 10-е сутки | p |
|---|---|---|---|---|
| Эуглобулиновый лизис, активированный стрептокиназой, сек | 70,0 (65,0–85,0) | 80,0 (70,0–85,0) | 75,0 (70,0–85,0) | 0,252 |
| Активность антитромбина III, % | 101,0 (90,0–111,0) | 100,0 (94,0–106,0) | 102,0 (94,0–106,0) | 0,845 |
| Активность протеина С, % (n=35) | 88,0 (80,0–100,0) | 84,0 (74,0–90,0) | 89,0 (76,0–97,0) | 0,003 c |
| Плазминоген, % | 100,0 (90,0–106,0) | 95,0 (87,0–104,0) | 99,0 (90,0–108,0) | 0,081 a |
| α-2-Антиплазмин, % | 88,0 (76,0–100,0) | 79,0 (73,0–96,0) | 91,0 (79,0–97,0) | <0,001 a,c |
| Д-димер, нг/мл | 0,26 (0,22–0,45) | 0,31 (0,22–0,79) | 0,22 (0,22–0,42) | 0,003 a,c |

***Примечание:*** *Количественные признаки представлены как медиана (первый и третий квартиль). Различия значимы:*
*a — между уровнем показателя до аборта и его уровнем к 3–4 суткам аборта,*
*c — между уровнями показателя от 3–4 к 10 суткам аборта.*

тора VIII, которая достоверно (p<0,017) снижалась в пределах физиологической нормы к 10-м суткам на 12,82% в среднем от исходного значения и повышалась на 7,93% от 3–4-х суток к 10-м суткам. Данные изменения показателей наблюдались в пределах границ референтных значений (табл. 2).

Нами было выявлено, что уровень средних значений фибриногена плазмы снижался в динамике фармакологического прерывания беременности. Причем, достоверное (p<0,017) его снижение отмечалось к 3–4-м суткам фармакологического прерывания беременности от исходного уровня и далее его уровень продолжал снижаться к 10-м суткам аборта, что достоверно (p<0,017) от исходного среднего показателя. Сходные изменения были выявлены в динамике активности фактора VIII, уровень которого снижался по всем реперным точкам фармакологического аборта от исходного уровня, причем его уровень к 10-м суткам аборта был достоверно (p<0,017) ниже показателя до аборта. Тем не менее, от 3–4-х суток к 10-м суткам фармакологического прерывания беременности отмечалось достоверное (p<0,017) повышение данного показателя (табл. 2).

Помимо активации коагуляционного звена нами были зарегистрированы изменения как в антикоагулянтном, так в и фибринолитическом звеньях системы гемостаза (табл. 3). Полученные данные о состоянии противосвертывающего и фибринолитического звеньев системы гемостаза, приведенные в таблице 3, свидетельствуют об отсутствии отклонений от нормы в функциональном состоянии у женщин перед фармакологическим прерыванием беременности.

В динамике проведения фармакологического прерывания беременности отмечалась незначимая (p>0,05) тенденция к снижению средних значений протеина С к 3–4-м суткам фармакологического аборта от исходного уровня и достоверное (p<0,017) его повышение в пределах референтных значений от 3–4 к 10-м суткам. Активность основного физиологического антикоагулянта антитромбина III в динамике аборта значимо не изменялась (p=0,845).

Фибринолитическое звено оценивалось нами на основе изучения динамики эуглобулинового лизиса, активированного стрептокиназой, активности плазминогена, α-2-антиплазмина и Д-димера. Выявлены следующие изменения в данном звене гемостаза. Средний уровень активности плазминогена имел тенденцию (p=0,081) к снижению от исходного уровня к 3–4-м сут-

Таблица 4.

**Прогностические признаки усиления агрегации тромбоцитов при индукции АДФ (более чем на 5 сек) к 3–4 суткам фармакологического аборта, (n = 55)**

| Тестируемый признак | Категории | Однофакторный анализ | | Многофакторный анализ | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | ОШ (95%ДИ)** | p | ОШ (95%ДИ)*** | p |
| Длительность кровотечения | более 14 дней | 2,50 (0,38–16,42) | 0,340 | 1,49 (0,13–16,79) | 0,747 |
| | 7–14 дней | 1,93 (0,35–10,77) | 0,454 | 2,01 (0,22-18,21) | 0,535 |
| | до 7 дней* | – | – | – | – |
| Объем кровопотери | обильное | 0,00 (0,00–…) | 0,999 | 0,00 (0,00–…) | 0,999 |
| | необильное* | | | | |
| Склонность к кровотечению | есть | 3,09 (0,75–12,71) | 0,118 | 8,85 (1,23–63,87) | **0,031** |
| | нет* | | | | |
| Доза мизопростола | 400–600 мг | 0,90 (0,24–3,45) | 0,878 | 0,46 (0,08–2,78) | 0,398 |
| | 800–1000 мг* | | | | |
| Способ введения препаратов | одномоментно | 1,17 (0,10–13,87) | 0,903 | 0,79 (0,03–23,70) | 0,890 |
| | мизопростол через 48 ч.* | | | | |
| Кратность введения мизопростола | 2- или 3-кратно | 1,04 (0,27–4,03) | 0,958 | 0,34 (0,04–2,97) | 0,330 |
| | однократно* | | | | |
| Путь введения мизопростола | вагинальный + пероральный | 0,42 (0,07–2,44) | 0,334 | 4,87 (0,37–64,31) | 0,229 |
| | вагинальный | 0,67 (0,12–3,84) | 0,650 | 0,65 (0,11–3,72) | 0,625 |
| | пероральный* | – | – | – | – |
| Доза RU-486 | 200 мг | 0,90 (0,24–3,45) | 0,878 | 1,79 (0,25–12,55) | 0,560 |
| | 400–800 мг* | | | | |

***Примечание:*** *Тестируемые признаки представлены как абсолютные частоты и абсолютные частоты (%).*

** — Референс-категория.*

*** — Нескорректированное отношение шансов усиления агрегации тромбоцитов с АДФ (более чем на 5 сек) к III–IV суткам фармаборта по результатам однофакторного логистического регрессионного анализа.*

**** — Скорректированное отношение шансов усиления агрегации тромбоцитов с АДФ (более чем на 5 сек) к III-IV суткам фармаборта по результатам однофакторного логистического регрессионного анализа методом форсированного ввода; χ2 (10) =9,76, p=0,462, -2LL=51,17, R2(Nagelkerke)=0,24.*

кам аборта с последующим повышением к 10-м суткам аборта, т.е. практически возвращаясь к исходному уровню. Это сопровождалось незначимым (p=0,252) снижением от исходного значения степени ускорения эуглобулинового лизиса, активированного стрептокиназой к 3–4-м суткам аборта. К 10-м суткам аборта фибринолитическая активность плазмы повышалась (p>0,05), оставаясь в пределах границ физиологической нормы, близкой к исходному значению (табл. 3).

Наиболее достоверные изменения регистрировались в динамике активности α-2-антиплазмина и уровне Д-димера. Выявлено снижение средних показателей активности α-2-антиплазмина к 3–4-м суткам фармакологического прерывания беременности на 10,22%, по сравнению с исходным уровнем (p<0,017) с последующим увеличением от 3–4-х к 10-м суткам аборта на 15,18 % (p<0,017, табл. 5). Уровень средних значений Д-димера к 3–4-м суткам фармакологического аборта достоверно повышался на 19,23% от исходного (p<0,017) с последующим

его снижением на 29,03% к 10-м суткам аборта (p<0,017). Необходимо отметить, что изменение уровня и активности указанных показателей системы гемостаза не выходило за пределы границ референтных значений.

Таким образом, при анализе основных показателей гомеостаза при медикаментозном аборте нами выявлено достовернее повышении активности ферментных систем печени по данным показателя АЛТ и прокоагулянтного потенциала крови, проявляющееся увеличением средних значений показателя МНО, функциональной активности тромбоцитов к 3–4-м суткам медикаментозного прерывания беременности. В то же время, по результатам лабораторного мониторинга отмечалось незначимое угнетение антикоагулянтного и фибринолитического потенциала системы гемостаза к 3–4-м суткам медикаментозного прерывания беременности. Причем, если активность антикоагулянтного и фибринолитического звеньев практически восстанавливается к 10-м суткам аборта, то тесты, отражающие прокоагулянтную активность крови (ПТИ, МНО, фибриноген), продолжали изменяться в динамике и к 10-м суткам в прежнем направлении, хотя отмечалась явная тенденция к снижению напряженности соморегуляции процессов свертывания.

После анализа динамики основных параметров гомеостаза при медикаментозном прерывании беременности, нами была поставлена задача, установить, имеется ли влияние ряда факторов, а именно наследственной склонности к кровотечениям, степени выраженности и длительности кровопотери, доз препаратов, путей и кратности введения мизопростола, на динамику показателей гомеостаза, достоверно меняющихся при использовании данного метода прерывания беременности. С этой целью был проведен расчет некорригированного отношения шансов (ОШ) в однофакторном логистическом регрессионном анализе для каждого из изученных предикторов.

При проведении однофакторного анализа достоверного влияния предикторов на динамику функциональной активности тромбоцитов при индукции АДФ и адреналином выявлено не было. Однако, по результатам многофакторного анализа наследственная склонность к кровотечениям увеличивала вероятность гиперагрегации при индукции АДФ к 3–4-м суткам фармакологического аборта в 8 раз (ОШ=8,85; 95% ДИ:1,23–63,87, p=0,031) в сравнении с отсутствием данного предиктора, в то же время значимого влияния предикторов на усиление агрегационной активности тромбоцитов с адреналином выявлено не было (табл.4).

Проведенный логистический регрессионный анализ показал, что доза мизопростола 600 мг и менее уменьшает вероятность снижения уровня фибриногена на 20% к 3–4-м суткам фармакологического аборта в 3 раза (ОШ=0,33; 95% ДИ:0,10–1,17, p=0,087) по сравнению с более высокими дозами мизопростола при проведении однофакторного анализа и в 8 раз (ОШ=8,24; 95% ДИ:1,34–50,76) после коррекции, причем многофакторный анализ выявил достоверное влияние данного предиктора (p=0,023) (табл.5.)

Значимого влияния изучаемых предикторов на повышение уровня ПТИ (более, чем на 5%) к 3–4-м суткам фармакологического прерывания беременности по результатам однофакторного анализа выявлено не было, однако после коррекции свое влияние проявил такой предиктор, как длительность кровотечения. По данным многофакторного анализа, более длительная кровопотеря (7–14 суток) достоверно (p=0,029) повышает вероятность увеличения уровня ПТИ более чем на 5% к 3–4-м суткам фармакологического аборта в 9 раз (ОШ=9,91; 95% ДИ:1,27–77,30), по сравнению с длительностью кровотечения до 7 суток.

Согласно данным регрессионного анализа, объем кровопотери, склонность к кровотечению, дозировки препаратов, кратность и путь введения мизопростола не оказывали достоверно значимого влияния на снижение активности фактора Виллебранта более чем на 5% к 3–4-м суткам фармакологического прерывания беременности. Однако было выявлено, что длительность кровотечения 7–14 суток повышала в 4 раза (ОШ=4,61; 95% ДИ: 1,01-21,07 (p=0,049) вероятность снижения активности фактора Виллебранта более чем на 5% к 3–4-м суткам фармакологического аборта по сравнению с длительностью кровотечения до 7-м суток по результатам однофакторного анализа и в 6 раз (ОШ=6,96; 95%ДИ:0,95–50,81, p=0,056) после коррекции.

При оценке влияния предикторов на повышение активности α-2-антиплазмина от 3–4-х

Таблица 5.

**Прогностические признаки снижения уровня фибриногена (более чем на 20%, 0,4 г/л) к 3–4-м суткам фармакологического аборта, (n=55)**

| Тестируемый признак | Категории | Однофакторный анализ | | Многофакторный анализ | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | ОШ (95%ДИ)** | p | ОШ (95%ДИ)*** | p |
| Длительность кровотечения | более 14 дней | 0,44 (0,06–3,29) | 0,427 | 0,16 (0,01–2,23) | 0,173 |
| | 7–14 дней | 2,67 (0,59–12,04) | 0,202 | 0,94 (0,14–6,17) | 0,949 |
| | до 7 дней* | – | – | – | – |
| Объем кровопотери | обильное | 1,19 (0,18–7,77) | 0,859 | 2,52 (0,12–51,33) | 0,548 |
| | необильное* | | | | |
| Склонность к кровотечению | есть | 0,71 (0,16–3,10) | 0,645 | 0,73 (0,09–5,95) | 0,765 |
| | нет* | | | | |
| Доза мизопростола | 400–600 мг | 0,33 (0,10–1,17) | 0,087 | 8,24 (1,34–50,76) | 0,023 |
| | 800–1000 мг* | | | | |
| Способ введения препаратов | одномоментно | 0,00 (0,00–…) | 0,999 | – | – |
| | мизопростол через 48 ч.* | | | | |
| Кратность введения мизопростола | 2- или 3-кратно | 0,63 (0,18–2,24) | 0,473 | 2,49 (0,35–17,57) | 0,361 |
| | однократно* | | | | |
| Путь введения мизопростола | вагинальный + пероральный | 2,67 (0,46–15,35) | 0,272 | 1,66 (0,16–17,11) | 0,669 |
| | вагинальный | 1,13 (0,33–3,81) | 0,850 | 1,67 (0,33–8,34) | 0,535 |
| | пероральный* | – | – | – | – |
| Доза RU-486 | 200 мг | 0,58 (0,15-2,16) | 0,412 | 0,51 (0,06–4,10) | 0,528 |
| | 400–800 мг* | | | | |

***Примечание:*** *Тестируемые признаки представлены как абсолютные частоты и абсолютные частоты (%).*

** — Референс-категория.*

*** — Нескорректированное отношение шансов снижения уровня фибриногена (более чем на 20%, 0,4 г/л) к III–IV суткам фармаборта по результатам однофакторного логистического регрессионного анализа.*

**** — Скорректированное отношение шансов снижения уровня фибриногена (более чем на 20%, 0,4 г/л) к III–IV суткам фармаборта по результатам однофакторного логистического регрессионного анализа методом форсированного ввода; χ2 (9) =13,01, p=0,162, -2LL=57,25, R2(Nagelkerke)=0,30.*

к 10-м суткам фармакологического аборта по данным однофакторного анализа было выявлено, что длительность кровотечения 7–14 суток достоверно (p=0,018) уменьшала в 7 раз (ОШ=0,13; 95% ДИ:0,02-0,71 вероятность повышения активности α-2-антиплазмина более чем на 5%, в сравнении с длительностью кровотечения до 7-ми суток. Однако после коррекции выявлено влияние других предикторов. Так, наследуемая склонность к кровотечениям уменьшала вероятность повышения активности α-2-антиплазмина к 10-м суткам фармакологического аборта в сравнении с 3–4-ми и в 2 раза (ОШ=0,16; 95% ДИ:0,02–1,17, p=0,071) по сравнению с отсутствием данного предиктора, а смешанный вагинально-пероральный путь введения мизопростола — в 12 раз (ОШ=0,08; 95% ДИ:0,01–1,35, p=0,081) по сравнению только с пероральным его приемом.

## Выводы.

1. В малые сроки беременности отмечается усиление функциональной активности тромбоцитов при индукции АДФ и адреналином, прогрессирующее к 3–4-м суткам медикаментозного аборта в виде укорочения времени агрегации на 11,76% при индукции АДФ (p=0,004) и на 7,89% при индукции адреналином (p=0,009) по сравнению с исходными значениями.

2. В динамике проведения медикаментозного прерывания беременности отмечено достоверное снижение в пределах физиологических значений активности фактора Виллебранта, отражающего функциональную активность эндотелия (p=0,037). Однофакторный анализ показал, что длительность кровотечения в 7–14 суток повышала в 4 раза (ОШ=4,61; 95% ДИ: 1,01–21,07 (p=0,049) вероятность снижения фактора Виллебранта более чем на 5% к 3–4-м суткам фармакологического аборта по сравнению с длительностью кровотечения до 7-ми суток.

3. На фоне фармакологического прерывания беременности выявлено достоверное (p<0,017) снижение уровня фибриногена в динамике к 3–4-м и к 10-м суткам и активности фактора VIII, который снижался в пределах физиологической нормы к 10-м суткам на 12,82% (p<0,017) и повышался на 7,93% от 3–4 к 10-м суткам. Данные изменения показателей наблюдались в пределах границ референтных значений

4. Выявлена активизация системы фибринолиза в виде снижение активности α-2-антиплазмина к 3–4-м суткам фармакологического прерывания беременности на 10,22%, по сравнению с исходным уровнем с последующим увеличением к 10-м суткам аборта на 15,18% (p<0,001) и повышения уровень Д-димера к 3–4-м суткам на 19,23% от исходного с последующим его снижением на 29,03% к 10-м суткам аборта (p<0,003).

5. Длительность кровотечения от 7 до 14 суток достоверно (p=0,018) уменьшала в 7 раз (ОШ=0,13; 95% ДИ:0,02–0,71) вероятность повышения активности α-2-антиплазмина более чем на 5%, в сравнении с длительностью кровотечения до 7-ми суток, при этом наследуемая склонность к кровотечениям уменьшала вероятность повышения активности α-2-антиплазмина к 10-м суткам фармакологического аборта в сравнении с 3–4-ми сутками и в 2 раза (ОШ=0,16; 95% ДИ:0,02–1,17, p=0,071) по сравнению с отсутствием данного предиктора, а смешанный вагинально-пероральный путь введения мизопростола — в 12 раз (ОШ=0,08; 95% ДИ:0,01–1,35, p=0,081) по сравнению только с пероральным его приемом.

### *Список литературы*


1. Епимахов Н.Г. Состояние системы гемостаза у женщин в условиях операционного стресса /Н. Г. Епимахов // Дисс. ... к.м.н.- Арх., 2003.- 100 с.
2. Синчихин С.П. Оценка эффективности алгоритма медикаментозного прерывания беременности и постабортной реабилитации /Синчихин С.П., Мамиев О.Б. // Гинекология.- 2008.-Т 10.- №1.-С. 56-60
3. Липман А.Д. Использование RU-486а для медикаментозного прерывания беременности и другие применения /Липман А.Д., Левина И.С., Кочев Д.М. // Сибирский Медицинский Журнал. – 2002. - № 4. – С.46-62
4. Тихомиров А.Л. Медикаментозное прерывание беременности при малом сроке / Тихомиров А.Л., Лубнин Д.М. //Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии.- 2006.-Т.5.- №1.-С. 115-119
5. Гусева Е.Н. Применение RU-486а для искусственного прерывания беременности ранних сроков / Гусева Е.Н., Абрамченко В.В., Курчишвили В.И., Карпов А.Б. //Акушерство и гинекология- № 5.- 2004.-С. 41-42
6. SIayden O.D. RU486 action after estrogen priming in the endometrium and oviducts of rhesus monkeys / SIayden O.D., Brenner R.M. // J. CIin. Endocrinol. Metab. – 1994. – Vol. 78. – P.440-448
7. Hausknecht R. Mifepristone and misoprostol for early medical abortion: 18 months experience in the United States /Hausknecht R. //Contraception.- 2003.- Vol.67.- №6.-P.463–465.
8. Largeaud M. Medical termination of pregnancy at 9-14 weeks gestation. Prospective study of 105 cases in Saint-Laurent-du-Maroni (French Guyana) /Largeaud M., El Guindi W., Perotti F, Montoya Y., Carles G, Seve B// J Gynecol. Obstet.Biol.Reprod. - 2004.- Vol.33.-№2.-P.119–124.
9. Баркаган З.С. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза / З.С. Баркаган, А.П. Момот //Издание 2-е дополненное.- М.: Ньюдиамед, 2001.-296 с.

# Роль теста генерации тромбина и некоторых маркеров тромбинемии для прогноза исходов экстракорпорального оплодотворения

**А. П. Момот[1], И. В. Лыдина[1], Л. П. Цывкина[1], О. Г. Борисова[2]**
**[1] – Лаборатория гематологии ЦНИЛ ГБОУ ВПО АГМУ Минздравсоцразвития России, г. Барнаул**
**[2] – КГБУЗ «Краевая клиническая больница», г. Барнаул**

## Введение.

Проблема бесплодия по социальной значимости занимает одно из ведущих мест в современном акушерстве. В связи с этим все большее распространение в мире получает метод лечения бесплодия путем экстракорпорального оплодотворения (ЭКО). Неудачи ЭКО могут быть обусловлены многими факторами, но одними из важных причин являются как тромбогенность самой технологии (гормональная нагрузка), так и частое наличие у женщин этой группы склонности к внутрисосудистому свертыванию крови [2, 3, 6]. В связи с этим большой интерес имеет оценка возможности распознания дефектов гемостаза при применении ЭКО с помощью недавно появившегося в России «глобального» метода — теста генерации тромбина (ТГТ). Последний, как известно, характеризует динамику и интенсивность генерации образования тромбина — ключевого фермента гемостаза и по праву относится к интегральным показателям состояния системы свертывания крови [4, 7–9].

## Цель.

Целью настоящей работы явились определение динамики генерации тромбина и оценка прогностической роли результатов ТГТ, а также уровня маркеров тромбинемии, для возникновения беременности в цикле ЭКО.

## Материалы и методы.

В данное проспективное исследование были включены 116 женщин, обратившихся в период с ноября 2010 г. по октябрь 2011 г. в Центр сохранения и восстановления репродуктивной функции на базе ГУЗ «Краевая клиническая больница», г. Барнаул, для прохождения программы ЭКО в связи с бесплодием. Средний возраст пациенток составил 33,8±0,4 года. У всех женщин был зарегистрирован регулярный менструальный цикл, противопоказаний к беременности и родам выявлено не было.

Исследование состояло из двух частей. В первой из них проведено обследование 100 женщин, отобранных произвольно, методом случайной выборки — с успешным наступлением беременности (50 женщин — первая группа) и при неудаче ЭКО (50 женщин — вторая группа). Следует отметить, что в целом, при анализе работы данного центра, частота случаев наступления беременности в отмеченный выше период времени составила 36,5%.

Во второй части исследования в цикле ЭКО наблюдались 16 женщин с высокими показателями тромбогенности на фоне усиленной гепаринопрофилактики (фраксипарин в дозе 0,6 мл × 2 раза в сутки).

Обследование проводилось в динамике в образцах плазмы крови, полученных у пациенток перед началом гормональной стимуляции (исходный фон — 1 этап), за 2–3 дня до пунк-ции фолликулов яичника (2 этап) и на 12–14 день после переноса эмбрионов (3 этап), когда исход в части наступления беременности при проведении ЭКО был уже известен.

Анализ плазмы крови по выполнялся на планшетном флюориметре Fluoroskan Ascent «ThermoFisher SCIENTIFIC», оснащенным диспенсером. При постановке ТГТ учитывали имеющиеся в литературе методические рекомендации (Наместников Ю. А. и соавт., 2011; Hemker H. et al., 2003). В качестве активатора свертыва-

ния использовался тканевой фактор в концентрации 5,0 пмоль/л. При постановке ТГТ учитывали имеющиеся в литературе методические рекомендации [5, 8].

В кривой генерации тромбина по результатам ТГТ учитывались следующие показатели: Lag time (время запаздывания, мин), Peak thrombin (пиковая концентрация тромбина, нмоль/л), Time to peak/tt Peak (время достижения пика тромбина, мин), ETP (эндогенный тромбиновый потенциал, нмоль×мин), а также Start tail (время окончания генерации тромбина, мин) (рис. 1).

В числе маркеров тромбинемии исследовались D-димеры (на автоматическом коагулометре Sysmex CA-1500 с использованием набора реагентов «D-dimer Plus», фирмы Simens/Dade Behring) и растворимые фибрин-мономерные комплексы (РФМК) в скрининговым тесте с ортофенатролином [1].

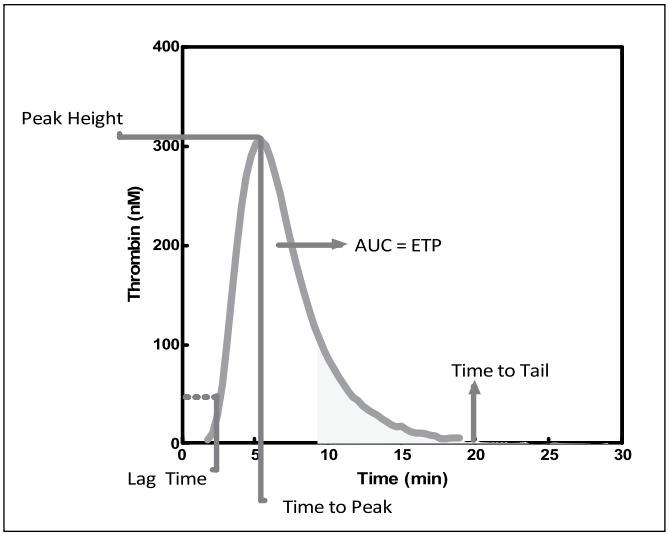


*Рис. 1. Тромбограмма по результатам теста генерации тромбина*

Таблица 1.

**Показатели ТГТ в группе 1 у пациенток с наступившей беременностью после проведения ЭКО (X±m)**

| Показатель | Этап обследования | | |
|---|---|---|---|
| | 1 этап | 2 этап | 3 этап |
| Lag time, мин | 1,99±0,09 | 2,49±0,18 | 2,44±0,05 |
| ETP, нмольЧмин | 1463,2±37,96 | 1644,7±39,33 | 1604,60±27,69 |
| Peak thrombin, нмоль/л | 306,87±6,57 | 334,32±4,65 | 301,83±3,95 |
| Time to peak/tt Peak, мин | 4,23±0,11 | 4,76±0,26 | 4,79±0,03 |
| Start tail, мин | 17,9±0,33 | 19,7±0,2 | 20,92±0,36 |

Таблица 2.

**Показатели ТГТ в группе 2 у пациенток с наступившей беременностью после проведения ЭКО (X±m)**

| Показатель | Этап обследования | | |
|---|---|---|---|
| | 1 этап | 2 этап | 3 этап |
| Lag time, мин | 2,28±0,23 | 2,4±0,12 | 2,37±0,09 |
| ETP, нмольЧмин | 1593,4±59,63 | 1891,7±118,64 | 1895,63±138,44 |
| Peak thrombin, нмоль/л | 322,68±5,51 | 394,07±7,57 | 374,15±8,83 |
| Time to peak/tt Peak, мин | 4,61±0,29 | 4,63±0,16 | 4,67±0,09 |
| Start tail, мин | 19,8±0,37 | 20,6±1,20 | 21,74±0,77 |

С учетом клинических показаний и данных традиционной коагулограммы пациенткам проводилась антитромботическая профилактика, включающая назначение антиагрегантов, трансдермальных форм гепарина, сулодексида, а в ряде случаев — профилактических доз низкомолекулярных гепаринов.

Результаты. Первая часть исследований включала в себя сравнительный анализ показателей ТГТ у 100 женщин, у которых был известен результат ЭКО. Данные, полученные в двух

сравниваемых группах, приведены в таблицах 1 и 2.

Дифференциально значимыми оказались два из пяти показателей, отражающих динамику генерации тромбина — эндогенный тромбиновый потенциал — ETP и пиковая концентрация тромбина — Peak thrombin, средние данные по которым были различны у женщин с теми или иными исходами ЭКО. В целом, оба этих параметра имели тенденцию к росту, что характеризовало известное нарастание тромбогенности у женщин при лекарственной эстрогеновой нагрузке в рамках проведения данной репродуктивной технологии. Нарастание ETP в крови (между 1 и 2 этапами), составило 12% у забеременевших женщин и 19% при неудаче ЭКО (P<0,05), Интересно, что увеличение пиковой концентрации тромбина (Peak thrombin) в эти же сроки наблюдений было еще более заметным. Последняя выросла в среднем, соответственно, в 1,09 и 1,22 раза (P<0,001). Мы считаем, что величина прироста тромбогенного по-тенциала в крови способна иметь прогностическую роль в оценке исходов ЭКО, с точки зрения наступления беременности. Дополнительно проведенные расчеты продемонстрировали, что у забеременевших и не забеременевших женщин значения параметра ETP перекрываются между собой, в то же время пределы колебаний Peak thrombin не «наслаиваются» друг на друга при различных

Таблица 3.

**Результаты оценки диапазона колебаний показателей ETP и Peak thrombin (X±2σ) в зависимости от исходов ЭКО**

| Показатель | Этап обследования | |
|---|---|---|
| | 1 этап | 2 этап |
| | ***При успешном наступлении беременности*** | |
| ETP, нмольЧмин | 1293,2–1633,2 | 1468,2–1820,2 |
| Peak thrombin, нмоль/л | 276,87–336,87 | 313,52–355,12 |
| | ***При неудачном результате ЭКО*** | |
| ETP, нмольЧмин | 1326,8–1860,0 | 1379,7–2403,7 |
| Peak thrombin, нмоль/л | 298,08–322,68 | 360,07–428,11 |

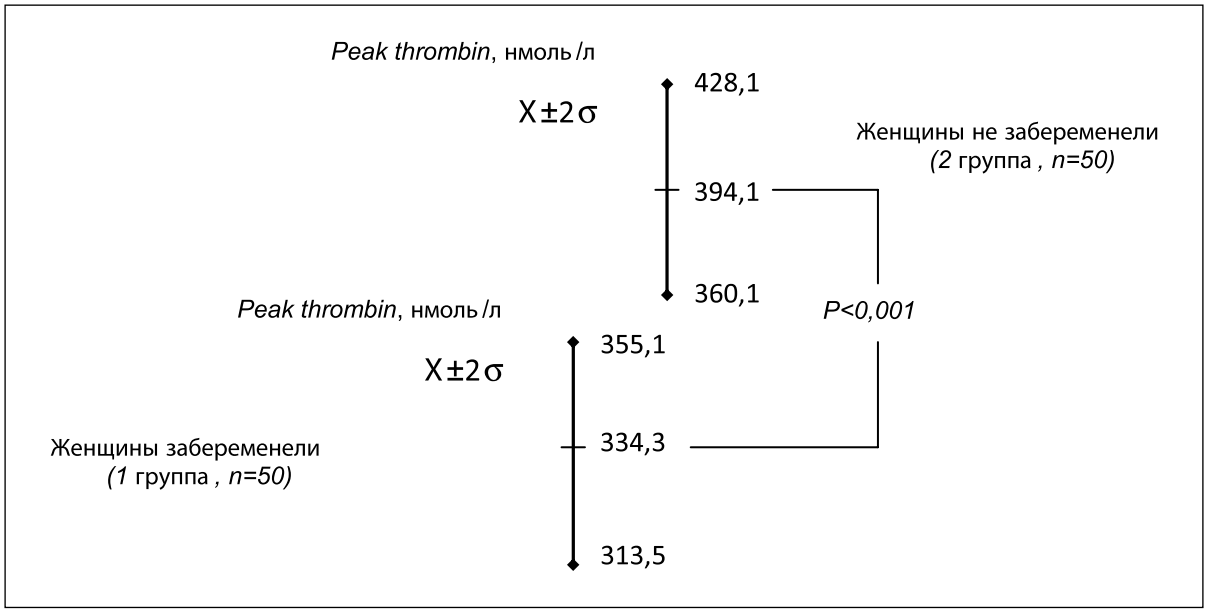


*Рис. 1. Прогностическое значение определения пиковой концентрации тромбина в цикле ЭКО (за 2-3 дня до пункции яйцеклеток яичника)*

исходах ЭКО, а, значит, имеют самостоятельное прогностическое значение (табл. 3 и рис. 2).

Эти клинико-лабораторные ассоциации логично вписываются в современные представления о негативном влиянии высокой тромбогенности на результаты ЭКО и вносят новые ориентиры в проблему выбора наиболее информативного способа лабораторной диагностики нарушений гемостаза, позволяющего отслеживать как исходы ЭКО, так и необходимость в ряде случаев применения более агрессивной гепаринопрофилактики.

Исследование известных маркеров тромбинемии — РФМК и D-димеров было сравнительно малоинформативным. Уровни данных маркеров существенно возрастали по мере про-

Таблица 4.

**Показатели тромбинемии у женщин в ходе цикла ЭКО (X±m)**

| Показатель | Этап обследования | | |
|---|---|---|---|
| | 1 этап | 2 этап | 3 этап |
| | ***При успешном наступлении беременности*** | | |
| D-димеры, нг/мл | 178,24±5,33 | 243,11±7,78 | 295,48±9,11 |
| РФМК, мг/100 мл | 9,12±0,77 | 9,76±0,86 | 10,68±0,92 |
| | ***При неудачном результате ЭКО*** | | |
| D-димеры, нг/мл | 166,82±7,47 | 247,05±9,98 | 387,33+11,04 |
| РФМК, мг/100 мл | 8,93±0,71 | 11,24±0,84 | 10,93±0,83 |

хождения цикла ЭКО, но прогностического значения (см. 2 этап) они не имели (табл. 4).

Таким образом, из числа изученных показателей, характеризующих активацию свертывания крови, лишь пиковая концентрация тромбина (Peak thrombin), определяемая по результатам ТГТ, проявила себя в качестве достоверного критерия, позволяющего прогнозировать наступление беременности при ЭКО.

Во второй части работы нами были отобраны 16 женщин с высокой пиковой концентрацией тромбина более 360 нмоль/л (в диапазоне от 376,04 до 510,21 нмоль/л, в среднем, X±m, 443,12±10,59 нмоль/л) на втором этапе исследований, у которых мы определили отрицательный прогноз по наступлению беременности. Назначение им низкомолекулярного гепарина в период между 2 и 3 этапами в цикле ЭКО (фраксипарин, подкожно, в дозе 0,6 мл × 2 раза в сутки) привело к наступлению беременности в 6 случаях или в 37,5% наблюдений.

## Выводы.

Данные, полученные с помощью современной, высокоточной лабораторной технологии, показывают связь избыточной генерации тромбина с неудачами ЭКО.

Поскольку, факт наличия гипертромбинемии определяется в цикле ЭКО достаточно рано, еще до пункции фолликулов яичника, с помощью теста генерации тромбина появляется возможность улучшать эффективность данной репродуктивной технологии путем применения более массированной гепаринопрофилактики у пациенток с избыточной активацией свертывания крови в ответ на гормональную нагрузку.

### *Список литературы*

1. Баркаган З. С., Момот А. П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. - М.: Ньюдиамед, 2001. - 296 с.

2. Джанджгава Ж.Г. Клиническое значение выявления тромбофилии у пациенток с беспло-дием и неудачами ЭКО: автореф. дис. …канд. мед. наук / Ж.Г. Джанджгава. – Москва, 2006. – 27 с.

3. Джанджгава Ж.Г. Бицадзе В.О. Неудачи ЭКО и материнская тромбофилия. // Проблемы репродукции, 2005. - № 5. – С. 41-43.

4. Наместников Ю.А. Тест генерации тромбина – интегральный показатель состояния систе-мы свертывания крови // Гематология и трансфузиология. – 2010. – Т. 55, №2. – С. 32–39.

5. Наместников Ю.А., Головина О.Г., Матвиенко О.Ю., Николаева А.Е., Хаит Е.А., Папаян Л.П. Условия постановки теста генерации тромбина для выявления состояний гиперкоагуля-ции // Клиническая лабораторная диагностика. – 2011. – №7. – С. 35–38.

6. Охтырская Т.А., Яворовская К.А., Шуршалина А.В. и др. Имплантационные потери в программах ЭКО: роль наследственной и приобретенной тромбофилии (обзор литературы) // Проблемы репродукции, 2010.- №2.- С.53-57.

7. Современные методы распознавания состояния тромботической готовности / А.П. Момот, Л.П. Цывкина, И.А. Тараненко И.А. и др.; под науч. ред. д-ра мед. наук, профессора А.П. Момота - Барнаул: Изд-во Алтайского государственного университета, 2011. - 138 с.

8. Hemker H.C., Giesen P., Al Dieri R. et al. Calibrated automated thrombin generation measurement in clotting plasma // Pathophysiol. Haemost. Thromb. – 2003. – V. 33. – P. 4–15.

9. Hemker H., Giesen P., Ramjee M. et al. The thrombogramm: monitoring thrombin generation in platelet-rich plasma // Thromb. Haemost. – 2000. – V. 83(4). – P. 589–591.

*От новых технологий -*
*к высоким стандартам!*

# ТЕХНОЛОГИЯ СТАНДАРТ

Производство и реализация широкого спектра диагностических наборов для оценки гемостаза

## Новинки 2011 года

В 2009 году система менеджмента качества ООО фирмы «Технология-Стандарт» сертифицирована на соответствие требованиям ISO 9001:2008 и ГОСТ ИСО 9001-2008.

**Почтовый адрес:** 656055, Россия, Барнаул, а/я 3603. **Адрес производства:** 656037, Россия, Барнаул, пр-кт Калинина, 116/95. Тел./факс: (3852) 229-937, 229-938, 229-939, 271-300, 271-101. E-mail:mail@tehnologia-standart.ru, www.tehnologia-standart.ru.

**Представительство в Москве:** М. «Текстильщики», ул. Шоссейная, д. 1, корп. 2. Тел./факс: (495) 730-41-69, 974-64-14, 730-18-19, 974-64-00, (499) 179-88-14. E-mail:tech-standart@yandex.ru

Фармстандарт

· РОССИЙСКАЯ НАУКА ·
· ОТЕЧЕСТВЕННЫЙ ПРОИЗВОДИТЕЛЬ ·
· МЕЖДУНАРОДНЫЙ СТАНДАРТ КАЧЕСТВА ·

# Коагил - VII

**ЭПТАКОГ АЛЬФА (АКТИВИРОВАННЫЙ)**
**рекомбинированный фактор свертывания крови VII**

***Первый отечественный фактор свертывания крови, полученный с помощью технологии рекомбинантных ДНК***

# СОВРЕМЕННЫЕ ЛЕКАРСТВЕННЫЕ ПРЕПАРАТЫ

# Опыт применения концентрата фактора Виллебранда «Вилате» у пациентки с тяжелой формой болезни Виллебранда (субтип 2N)

**А. Н. Мамаев[1,2], А. П. Момот[1], В. А. Елыкомов[3], Л. И. Морозова[4], Е. В. Григорьева[2], О. В. Ефремова[2], И. Е. Бабушкин[3]**

**[1] – Алтайский филиал ФГБУ «Гематологический научный центр» Минздравсоцразвития России**
**[2] – КГБУЗ «Алтайская краевая клиническая больница», г.Барнаул;**
**[3] – ГБОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет» Росздрава, г. Барнаул**
**[4] – МУЗ «Городская больница 11», г.Барнаул**

Болезнь Виллебранда (БВ) является наиболее частым наследственным геморрагическим заболеванием, в основе которого многочисленные генетические нарушения синтеза протеина (фактора Виллебранда), способствующего тромбоцитарной адгезии [1, 2, 6]. БВ распространена повсеместно и встречается в клинической практике врачей самых разных специальностей. Тяжелые формы БВ ведут к частым анемизирующим кровотечениям, но особенно опасна эта кровоточивость при хирургических вмешательствах, родах и др. травматических воздействиях.

В настоящее время принята следующая классификация БВ [2-4] (табл. 1).

Таблица 1.

**Типы и субтипы болезни Виллебранда**

| Тип/подтип БВ | Фактор Виллебранда/Характер нарушений |
|---|---|
| 1 | Количественный дефект |
| 2 | Качественный дефект |
| 2A | Отсутствие больших мультимеров |
| 2B | Повышенная аффинность к ГП 1b |
| 2N | Сниженная аффинность к фактору VIII |
| 2M | Сниженная аффинность к ГП 1b тромбоцитов без нарушения мультимерной структуры |
| 3 | Полное отсутствие фактора Виллебранда |

Эффективным методом лечения некоторых типов болезни Виллебранда является внутривенное, подкожное или интраназальное введение синтетического производного гормона вазопрессина — десмопрессина (аналоги: Адиуретин-SD, Эмосинт, Минерин и др.), позволяющего мобилизовать в плазму крови депонированный эндотелиоцитами ФВ [2,5,6].

Вместе с тем, при ряде вариантов БВ (частично 1 тип, типы 2N и 3) такой маневр малоэффективен и требуется применение других средств, которые можно разделить на две большие группы:

**1. Локального действия:**

- синтетические ингибиторы фибринолиза (э-аминокапроновая кислота - э-АКК и препараты на ее основе — капрофер и др.; транексамовая кислота) при орошениях мест кровотечений;
- фибриновый клей (Tissucol Kit — двухкомпонентный фибриновый клей на основе фибриногена, тромбина, фактора XIII и апротинина; Tachocomb — пластины различного размера с комбинацией коллагена с фибриногеном и тромбином;
- пластины или губки на основе коллагена — Tachotop, Гемасепт, губка гемостатическая коллагеновая.

**2. Общего действия:**

- концентраты фактора VIII, содержащие ФВ;
- синтетические ингибиторы фибринолиза (э-АКК, транексамовая кислота) при назначении внутрь или парентерально;
- концентрат тромбоцитов;
- рекомбинантный фактор VIIa.

Нами был успешно использован новый концентрат фактора Виллебранда «Вилате» при родах у пациентки с тяжелым течением БВ. Больная А.Т.А. (1981 г.р.), состоит на диспансерном учете в центр по диагностике и лечению нарушений гемостаза с БВ. В течение продолжительного времени у пациентки имеются жалобы на выраженный геморрагический синдром (анемизирующие маточные и носовые кровотечения, гематомы, гемартрозы и др.), имеются признаки сидеропении. Геморрагические нарушения наблюдаются с раннего детского возраста, но особенно тяжелым течение заболевания стало после становления менструального цикла. Наследственность без особенностей.

В 2008 году пациентка забеременела и к концу периода гестации стал актуален вопрос о фармакологической профилактике массивного кровотечения при плановом родоразрешении. Во время дородовой госпитализации у пациентки было выполнено исследование системы гемостаза (табл.2).

Как следует из представленной таблицы, было обнаружено значительное нарушение внутреннего механизма коагуляции за счёт глубокого снижения уровня коагуляционного фактора VIII, а также снижение ристомицин-кофакторной активности фактора Виллебранда. На основании представленных клинических и лабораторных данных, у пациентки был диагностирован вариант 2N болезни Виллебранда.

Учитывая то, что кровоточивость при этом субтипе не устраняется производными десмопрессина, в комплекс лечебных профилактических мероприятий для осуществления родов у

Таблица 2.

**Показатели системы гемостаза у больной А.Т.А. при сроке беременности 38 недель.**

| Показатели системы гемостаза | Больная А.Т.А. | Диапазон нормальных значений |
|---|---|---|
| АПТВ/АЧТВ, с | 73 | 30-40 |
| Протромбиновое время, с | 15 | 15-18 |
| Тромбиновое время, с | 15 | 14-18 |
| Анцистроновое время, с | 28 | 25-35 |
| Фибриноген, г/л | 4,1 | 2,0-4,0 |
| Антитромбин-III, % | 90 | 75-130 |
| Протеин С, % | 85 | 70-130 |

| Показатели системы гемостаза | Больная А.Т.А. | Диапазон нормальных значений |
|---|---|---|
| Активность коагуляционного фактора VIII, % | 1-2 | 50-150 |
| Активность коагуляционного фактора IX, % | 100 | 50-150 |
| Фактор Виллебранда (VWF:Ag), % | 114 | 50-160 |
| Фактор Виллебранда (VWF:RCo), % | 12 | 70-130 |
| Агрегация с АДФ, % | 70 | 50-70 |
| Агрегация с адреналином, % | 22 | 50-70 |
| Агрегация с коллагеном, % | 55 | 50-70 |
| Агрегация с ристоцетином (RIPA), % | 83 | 70-100 |
| Тромбоциты, $\times 10^9$ | 253 | 150-380 |

пациентки был добавлен концентрат фактора Виллебранда «Вилате» в дозе 38,6 МЕ/кг. Роды у больной с тяжелым течением врождённого геморрагического заболевания прошли без значимой кровопотери (кровопотеря составила 400 мл). В послеродовом периоде больной в течение 3-х дней применяли препарат «Вилате», каких-либо геморрагий не было. Однако после отмены концентрата появились мажущие кровянистые выделения из половых путей, также были обнаружены спонтанные гематомы на голенях.

Таким образом, применение современного концентрата «Вилате» позволяет осуществить профилактику геморрагических осложнений при родах у больных с тяжелым течением БВ.

Учитывая, что лечащему врачу нередко приходится выбирать между пользой и риском тромботических осложнений при применении тех или иных гемостатических средств, считаем необходимым отметить, что использование «Вилате», представляющего собой сбалансированное (около 1:1) соотношение плазменного фактора VIII и ФВ, связано с низкой вероятностью избыточного накопления фактора VIII и создания тромбогенного состояния [6].

Представленный случай, а также 10 эпизодов аналогичной тактики, примененной в нашем центре при различных типах БВ, сопутствующей малым хирургическим вмешательствам (дентектомия, ЛОР-вмешательства и др.) свидетельствуют перспективности использования данного препарата для профилактики массивной кропотери при этом распространенном виде геморрагического диатеза.

### *Список литературы*

1. Баркаган З.С. Геморрагические заболевания и синдромы., М., Медицина, 1988. – 528 с.

2. Баркаган З.С. Руководство по гематологии: в 3 т. Т. 3. Под ред. А.И.Воробьева. 3-е изд. , М.: Ньюдиамед; 2005. – 416 с.

3. Гемостаз. Физиологические механизмы, принципы диагностики основных форм геморрагических заболеваний /Под ред. Н.Н. Петрищева, Л.П.Папаян. С.-Петербург, 1999. – 121 с.

4. Папаян Л.П., Головина О.Г. Вариантные формы болезни Виллебранда. //Терапевтический архив, 1990. – Т. 62. - № 7. – С. 86-92.

5. Румянцев А.Г. Современная терапия болезни Виллебранда (лекция) // Вопросы гематологии/ онкологии и иммунопатологии в педиатрии, 2005, т. 4. - № 2. – С. 12-15.

6. Mannucci P. Treatment of von Willebrands disease. // N. Engl. J. Med., 2004. – V. 351. – P. 683-694.

# СЛУЧАЙ ИЗ ПРАКТИКИ

# Синдром Виллебранда. Клинический случай без снижения отношения VWF:AG/VWF:RCO у пациентки с хроническим миелолейкозом

**А. Н. Мамаев[1], О. В. Ефремова[1], А. П. Момот[2], Г. И. Костюченко[1], Е. В. Григорьева[1], Л. П. Цывкина[3], Д. В. Белозёров[1], Ю. В. Яковенко[1], М. В. Косинова[4]**

**[1] – КГБУЗ «Алтайская краевая клиническая больница», г. Барнаул**
**[2] –Алтайский филиал ФГБУ «Гематологический научный центр» Минздравсоцразвития России, г. Барнаул**
**[3] – ГБОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет» Росздрава, г. Барнаул;**
**[4] – ГУЗ «Областная клиническая больница», г. Кемерово**

Синдром Виллебранда (СВ) — это редкий геморрагический диатез, возникающий на фоне онкологических, иммунных, иных заболеваний или спонтанно, характеризующийся дисфункцией и/или снижением концентрации фактора Виллебранда [Ю. Н. Андреев и соавт., 2005; A. L. Bloom, 1980; A. Veyradier et al., 2000; A. B. Federici et al., 2001, 2004]. Нередко этот синдром называют приобретённая болезнь Виллебранда [L. Holland et al., 1980; S. Kumar et al., 2002; H. Mohri, 2003; K. Yoshida et al., 2006], поскольку, в отличие от болезни Виллебранда, геморрагический синдром при этой дисфункции системы гемостаза выявляется уже после обнаружения клинических проявлений фонового заболевания. Эта патология впервые была описана в 1968 году на фоне системной красной волчанки [J. V. Simone et al., 1968]. Поскольку иммунные, онкологические, онкогематологические заболевания чаще наблюдаются у взрослых, диагностируют СВ преимущественно уже в зрелом возрасте, хотя описаны случаи выявления этого нарушения системы гемостаза и у детей. У таких больных возникают различные кровотечения (чаще умеренные) на фоне основного (фонового) заболевания. В подавляющем большинстве клинических ситуаций наследственность по геморрагическим проявлениям у таких пациентов не отягощена.

В таблице 1 представлены основные заболевания и патологические состояния, патогенетически связанные с СВ.

Генез СВ окончательно не расшифрован, однако можно не без оснований назвать его мультифакториальным. В большинстве случаев при этой патологии синтез фактора Виллебранда эндотелиальными клетками и мегакариоцитами не нарушен, но наблюдается укорочение продолжительности циркуляции в кровотоке его мультимеров. Однако в ряде ситуаций, на-

Таблица 1.

**Заболевания, при которых обнаруживается синдром Виллебранда.**

| Патогенетические группы | Заболевания |
|---|---|
| Иммунные заболевания | СКВ, склеродермия |
| Онкологические заболевания | Нефробластома, аденокарцинома, канцероматоз |
| Гематологические заболевания | Моноклональная гаммапатия, миелолейкоз, лимфолейкоз, лимфомы, макроглобулинемия Вандельстрема, миеломная болезнь, эсенциальная тромбоцитемия, полицитемия, талассемия, приобретенная гемофилия |
| Дисплазии соединительной ткани | Синдром Элерса-Данло, желудочно-кишечная ангиодисплазия |
| Медикаменты | Антибиотики (гризеофульфин, ципрофлоксацин), противосудорожные препараты, концентраты коагуляционного фактора VIII |
| Другие | Инфекционные заболевания вирусной и бактериальной этиологии, пороки сердечных клапанов, гипотиреоз |

пример, при гипотиреозе, происходит нарушение синтеза фактора Виллебранда, поэтому при этом заболевании наблюдается закономерное снижение активности и уровня этого протеина [M. Franchini et al., 2005].

Патогенетические механизмы, лежащие в основе СВ, можно условно разделить на ингибирование, протеолиз, недостаточный синтез, связывание мультимеров клетками. Циркуляция аутоантител к фактору Виллебранда обуславливает его ингибирование или увеличение скорости элиминации при миеломной болезни, СКВ и ряде других нарушений [E. G. Bovill et al., 1986; H. Mohri et al.,1987; C. Richard et al., 1990; A. B. Federici et al., 2001]. Их наличие обуславливает образование иммунных комплексов, которые быстро элиминируются из организма ретикулоэндотелиальной системой. Связывание рецепторами активированных тромбоцитов (GPIb-IX-V или GPIIb-IIIa) крупных мультимеров описано при эссенциальной тромбоцитемии [U. Budde, P. J. van Genderen, 1997; P. J. van Genderen et al., 1997]. Подобное же связывание с разобщением комплекса VIII:C-vWF возникает при онкологических заболеваниях и лейкозах (карциномы, лимфомы и др.). Еще один механизм — это протеолиз при миелопролиферативных заболеваниях плазмином, ADAMTS-13 или другими субстанциями [P. Baud et al., 2003].

Диагностика синдрома Виллебранда основана на обнаружении симптомов, маркирующих приобретённое геморрагическое заболевание, а также выявлении некоторых, характерных для болезни Виллебранда, лабораторных проявлений. Поэтому у больных с СВ могут быть в комбинации нарушены следующие тесты:

- снижение активности фактора Виллебранда,
- снижение уровня антигена фактора Виллебранда,
- удлинённое время кровотечение,
- пролонгация АПТВ/АЧТВ,
- удлинение времени закрытия апертуры картриджа (closure time) по данным PFA-100,
- снижение уровня коагуляционного фактора VIII.

Лечение должно быть направлено на терапию основного заболевания, а также на устранение и профилактику геморрагий [H. Takahashi et al., 1986; P. W. Friederich et al., 2001; M. Franchini et al., 2002; Maddox JM et al., 2005;]. Прогноз в большинстве случаев зависит от особенностей течения основного заболевания.

## Клиническое наблюдение

Пациентка Щ., возраст 57 лет, состоит на диспансерном учете по поводу хронического миелолейкоза (ХМЛ) в течение 10 лет. В дебюте заболевания Филадельфийская хромосома 100%, промежуточная группа риска по Сокал. Вначале пациентке проводилась первично сдерживающая терапия гидроксикарбамидом, затем интерферонотерапия 5–6 млн ЕД подкожно еже-

дневно в сочетании с малыми дозами Цитозара, гидроксикарбамидом, однако гематологическая ремиссия не была получена. С марта 2005 года принимает Гливек с 400 мг в сутки. В дальнейшем, учитывая отсутствие цитогенетического ответа, доза Гливека была увеличена последовательно до 600 мг, а затем и до 800 мг в сутки. В связи с гематологической токсичностью 3 степени на фоне применения 800 мг этого препарата, его доза была снижена до 600 мг в сутки. На момент осмотра цитогенетическая ремиссия отсутствует, Bcr-abl 4,03% от 23.09.2011.

В течение 1,5 лет у пациентки наблюдаются рецидивирующие кровоизлияния в склеру правого века, эпизоды мелкоточечной геморрагической сыпи на коже, кровотечение после удаления зуба до 6 часов, кровотечение после эндопротезирования левого тазобедренного сустава, потребовавшее трансфузии свежезамороженной плазмы. Несмотря на продолжительный анамнез ХМЛ и неоднократные эпизоды снижения тромбоцитов до 42 × $10^9$/л, ранее не наблюдалось геморрагического синдрома. Наследственность по геморрагическим заболеваниям не отягощена.

Результаты исследования периферической крови, биохимическое исследование и показатели системы гемостаза на момент наличия геморрагического синдрома у больной Щ. представлены в таблицах 2–4. В общем анализе мочи обнаружен белок до 0,36‰, единичные эритроциты.

Таблица 2.

**Показатели периферической крови у больной с синдромом Виллебранда.**

| Показатели | Больная Щ. |
|---|---|
| RBC, × $10^{12}$/л | 2,9 |
| HB, г/л | 96 |
| HCT, % | 30,6 |
| MCV, фл | 105 |
| MCH, пг | 32,9 |
| MCHC, г/л | 32,4 |
| PLT, × $10^9$/л | 50 |
| MPV, фл | 8,5 |
| WBC × $10^6$/л | 1,6 |
| Эозинофилы, % | 2 |
| Базофилы, % | 0 |
| Палочкоядерные, % | 1 |
| Сегментоядерные, % | 44 |
| Лимфоциты, % | 50 |
| Моноциты, % | 3 |

Биохимический анализ крови на момент наличия геморрагического синдрома представлен в таблице 3.

Таблица 3.

**Биохимические показатели у больной с синдромом Виллебранда.**

| Показатели | Больная Щ. |
|---|---|
| АЛТ, ед./л | 18,3 |
| АСТ, ед./л | 22,7 |
| Общий билирубин, мкмоль/л | 13,4 |
| Непрямой билирубин, мк моль/л, | 10,6 |

| Показатели | Больная Щ. |
|---|---|
| Мочевина, ммоль/л. | 5,86 |
| Креатинин, мкмоль/л. | 70,5 |
| Щелочная фосфотаза, ед./л | 140,7 |
| Общий белок, г/л | 63,8 |
| ГГТП, Ед | 20,7 |

Таблица 4.

**Результаты исследования системы гемостаза у больной Щ. с синдромом Виллебранда на фоне хронического миелолейкоза.**

| Методы исследования | Больная | Контроль |
|---|---|---|
| АПТВ, с | 36 | 29 |
| Протромбиновое время, с | 14 | 14 |
| МНО | 1,0 | – |
| Тромбиновое время, с | 20 | 19 |
| Анцистроновое время, с | 23 | 21 |
| Батроксобиновое время, с | 25 | 24 |
| Фибриноген, г/л | 3,7 | 2,0–4,0 |
| D-димер, нг/мл | 250 | <300 |
| Р Ф М К, мг% | 3,5 | до 3,5 |
| XIIa зависимый фибринолиз, мин | 10 | до 10 |
| Антитромбин III, % | 98 | 75-125 |
| Плазминоген, % | 85 | 75-125 |
| Волчаночный антикоагулянт | Отр. | Отр. |
| Протеин С, % | 90 | 70–130 |
| Активность коагуляционного фактора VIII, % | 40 | 50–150 |
| Активность коагуляционного фактора IX, % | 75 | 50–150 |
| Агрегация тромбоцитов на агрегометре: | | |
| – АДФ, в дозе $5 \times 10^{-5}$ М, % | мало PLT | 70–80 |
| – АДФ, в дозе $2 \times 10^{-5}$ М, % | мало PLT | – |
| – ристомицин (0,17 мкг/мл), % | мало PLT | 80–90 |
| – адреналин (5 мкг/мл), % | мало PLT | 70–80 |
| – коллаген, % | мало PLT | 70–80 |
| Фактор Виллебранда (VWF:Ag), % | 45 | 50–150 |
| Фактор Виллебранда (VWF:RCo), % | 50 | 60–150 |
| Тромбоциты, $\times 10^9$ /л | 50 | 170–380 |
| Ratio VWF:Ag/ VWF:RCo | 0,9 | Более 0,7 |

Как следует из представленного клинического примера, мы обнаружили пациентку с синдромом Виллебранда на фоне хронического миелолейкоза. Как было сказано выше, у таких больных на фоне онкогематологических заболеваний наблюдается нарушение ристомицин-кофакторной активности фактора Виллебранда, однако уровень антигена бывает сохранён. Особенностью клинического наблюдения является то, что у больной было сочетанное снижение уровня антигена фактора Виллебранда и его ристомицин-кофакторной активности.

***Список литературы***


1. Андреев Ю.Н., Баркаган З.С., Буланов А.Ю. и соавт. Руководство по гематологии. / под ред. А.И. Воробьёва. т.3./ М.Ньюдиамед, 2005. – 416 с.
2. Baud P., Tobler A., La Ëmmle B., Alberio L. Acquired von Willebrand syndrome in myeloproliferative disorder. // Hamostaseologie, 2003. – 23. – P.121–124.
3. Bloom AL. The von Willebrand syndrome. // Semin. Hematol. – 1980. – 27. P.215–227.
4. Bovill E.G., Ershler W.B., Golden E.A. et al. A human myeloma-produced monoclonal protein directed against the active subpopulation of von Willebrand factor. // Am. J. Clin. Pathol.- 1986. – 85. – P.115-123.
5. Budde U., van Genderen P.J. Acquired von Willebrand disease in patients with high platelet counts. // Sem. Thromb. Haemost. – 1997. – 23. – P.425-431.
6. Federici A.B., Budde U., Rand J.H. Acquired von Willebrand syndrome 2004: International registry. - HaËmostaseologie. – 2004. – 24. – P.50-55.
7. Federici A.B., Rand J.H., Mannucci P.M. Acquired von Willebrand syndrome: An important bleeding complication to be considered in patients with lymphoproliferative and myeloproliferative disorders. // Hematol. J. 2001. – 2. – 358-362.
8. Franchini M., De Gironcoli M., Lippi G. et al. Efficacy of desmopressin as surgical prophylaxis in patients with acquired von Willebrand disease undergoing thyroid surgery. // Haemophilia. – 2002. – 8. – P.142-144.
9. Franchini M., Veneri D., Lippi G. Analysis of thyroid hormone status in 131 consecutive individuals with low von Willebrand factor levels. // Thromb. Haemost. – 2005. – 93. – P.392-393.
10. Friederich P.W., Wever P.C., Briet E. et al. Successful treatment with recombinant factor VIIa of therapy resistant severe bleeding in a patient with acquired von Willebrand disease. // Am. J. Hematol. – 2001. – 66. – P.292-294.
11. Holland L, Adamson A, Ingram GIC, Chalmers DG. Acquired von Willebrand syndrome. // Br. J. Haematol. – 1980. – 45. – P.161-164.
12. Kumar S., Pruthi R.K., Nichols W.L. Acquired von Willebrand disease. // Mayo Clin. Proc. – 2002. – 77. – P.181-187.
13. Maddox J.M., Anderson J.A.M., Plews D., Ludlam C.A. Management of acquired von Willebrand's syndrome in a patient requiring major surgery. // Haemophilia. – 2005. – 11. – P.633-637.
14. Mohri H., Noguchi T., Kodama F. et al. Acquired von Willebrand disease due to inhibitor of human myeloma protein specific for von Willebrand factor. // Am. J. Clin. Pathol. – 1987. – 87. – P.663-668.
15. Mohri H. Acquired von Willebrand syndrome: Its pathophysiology, laboratory features and management. / J. Thromb. Thrombolysis. – 2003. – 15. – P.141-149.
16. Richard C., Cuardo M.A., Prieto M. Acquired von Willebrand disease myeloma secondary to absorption of von Willebrand factor by plasma cells. // Am. J. Haematol. – 1990. – 35. – P.114-117.
17. Simone J.V., Cornet J.A., Abildgaard C.F. Acquired von Willebrand's syndrome in systemic lupus erythematous. // Blood. – 1968. – 31. – P.806-812.
18. Takahashi H., Nagayama R., Tanabe Y. DDAVP in acquired von Willebrand syndrome associated with multiple myeloma. // Am. J. Haematol. – 1986. –22. –P.421-429.
19. van Genderen P.J., Leenknegt H., Michiels J.J. The paradox of bleeding and thrombosis in thrombocythemia: Is von Willebrand factor the link? // Sem. Thromb. Haemost. – 1997. – 23. – P.385-389.
20. Veyradier A., Jenkins C.S., Fressinaud E. et al. Acquired von Willebrand syndrome: From pathophysiology to management. // Thromb. Haemost. 2000. – 84. – P.175-182.
21. Yoshida K., Tobe S., Kawata M., Yamaguchi M. Acquired and reversible von Willebrand disease with high shear stress aortic valve stenosis. // Ann. Thorac. Surg. – 2006. – 81. – P.490-494.

# ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ АВТОРОВ

Научно-практический журнал «Гемостазиология» — печатное издание для гематологов, врачей-лаборантов и других специалистов, занимающихся проблемами системы гемостаза. Журнал публикует оригинальные статьи по фундаментальным, прикладным, клиническим и экспериментальным исследованиям, а также клинические наблюдения, лекции, дискуссии, обзоры литературы, и другие информационные материалы, посвященные актуальным проблемам системы гемостаза. Основные разделы журнала: «Передовая статья», «Оригинальные исследования», «Новые медицинские технологии», «Лекции», «Современные лекарственные препараты», «Случай из практики».

Решение о публикации статей принимается редакционным советом на основании мнения независимых рецензентов. Редакция оставляет за собой право редактировать статьи. **Авторам публикаций будет обеспечена бесплатная подписка в течение года за счёт издателя (подписка будет оформлена на учреждение, из которого исходит рукопись).**

## Общие правила оформления рукописи

Рукопись публикации необходимо предоставить в редакцию в двух экземплярах. На первой странице первого экземпляра должна быть виза руководителя учреждения, заверенная печатью. Кроме того, в рукописи следует предоставить информацию о месте работы, должностях, научных званиях авторов, а также все их подписи. Важно также отдельно указать фамилию, имя, отчество, телефон, почтовый адрес и e-mail автора, ответственного за переписку с редакцией.

К работе прилагается письмо-сопровождение, подтверждающее передачу прав на публикацию, с указанием того, что данный материал соответствует этическим стандартам биоэтического комитета учреждения. В сопроводительных письмах публикаций, описывающих эксперименты на животных, важно указать, что они проводились в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приложение к приказу Министерства здравоохранения СССР от 12.08.1977 г. № 755).

Копии всех материалов должны храниться у авторов публикации.

## Разделы публикации

Оригинальная публикация должна включать следующие разделы: введение, материалы и методы, результаты, обсуждение, заключение (выводы), литература. В обзорах, лекциях, передовых статьях, описаниях клинических случаев возможна другая структура разделов.

## Особенности печати экземпляра рукописи

Печатать текст и остальные компоненты статьи следует на бумаге формата А4 с размером полей не менее 2 см справа, слева, вверху и внизу, на одной стороне листа через 1 междустрочный интервал, используя шрифт Times New Roman, размер 12 пунктов. Страницы должны быть пронумерованы арабскими цифрами, начиная с титульной. Общий объем оригинальной статьи не должен превышать 12, обзорной работы — 15, кратких сообщений — 4 страниц машинописного текста.

## Иллюстрации

Рисунки, графики, схемы, фотографии представляются в двух экземплярах, нумеруют-

ся. При необходимости следует указать ориентацию рисунка, подписав «верх». Подписи к иллюстрациям прилагаются на отдельном листе с указанием номера рисунка. Для ранее опубликованных иллюстраций необходимо указать оригинальный источник и представить письменное разрешение на воспроизведение от их автора.

## Таблицы

Таблицы нумеруются и последовательно цитируются в тексте. Каждый столбец должен иметь краткий заголовок, пропуски в строках (за отсутствием данных) обозначаются знаком тире. На данные из других публикаций необходима ссылка. Дублирование одних и тех же сведений в тексте, графиках, таблице недопустимо.

## Сокращения

Следует ограничиться общепринятыми сокращениями (ГОСТ 7.12-93 для русского и ГОСТ 7.11-78 для иностранных европейских языков), избегая новых без достаточных на то оснований. Аббревиатуры расшифровываются при первом использовании терминов и остаются неизменными по всему тексту. Сокращения, аббревиатуры в таблице разъясняются в примечании.

## Библиографические ссылки

Ссылки должны быть четко сверены с оригиналами и приведены под заголовком «Литература» на отдельном листе в порядке цитирования, либо в алфавитном порядке для обзоров литературы. В тексте ссылки нумеруются в квадратных скобках: [1], [3–6], [8, 9]. Библиографическое описание выполняется на основе ГОСТ 7.1-2003 («Библиографическая запись. Библиографическое описание»).

## Авторство

Данные об авторах указываются в последовательности, которая определяется их совместным решением и подтверждается подписями. Иные лица, внесшие вклад в выполнение работы, недостаточный для признания авторства, но оказавшие техническую, финансовую, интеллектуальную помощь, должны быть перечислены (с их письменного согласия) в разделе «Выражение признательности» после текста статьи.

## Электронная версия

К рукописи, принятой для публикации, должен быть приложен окончательный электронный вариант статьи и иллюстративного материала на CD-диске. Публикации предоставляется в текстовом редакторе Word for Windows (RTF); таблицы и графики — Microsoft Excel (XLS); фотографии и рисунки следует отправлять в формате TIF с разрешением не менее 300 точек, векторные изображения — в EPS, EMF, CDR. Размер изображения должен быть не менее 4,5 × 4,5 см, а по площади занимать не более 100 см$^2$. CD-диск должен быть четко подписан (автор, название статьи).

## Адрес редакции

656024, Россия, Алтайский край,
г. Барнаул, ул. Ляпидевского, 1,
ГУЗ «Краевая клиническая больница».
E-mail: amamaev@yandex.ru

Рукопись публикации и её электронный вариант следует направлять главному редактору или заместителю главного редактора: Главный редактор — д.м.н., профессор А. П. Момот, тел/факс: (3852) 689-800; Заместитель главного редактора — д.м.н., А. Н. Мамаев, тел/факс: (3852) 689-880.